

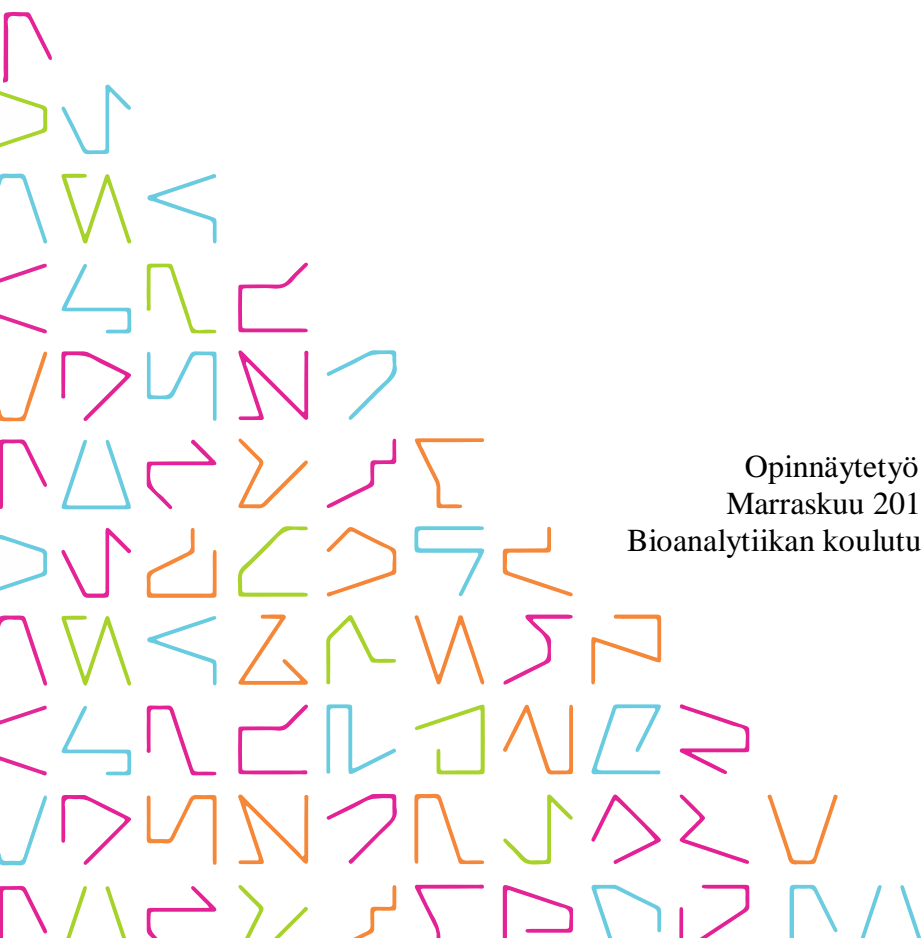


TAMPEREEN
AMMATTIKORKEAKOULU

LAKTAATTIMÄÄRITYS KEMIAN ANALY- SAATTORILLA JA VERIKAASUANALYSAAT- TORILLA

Jenni Raatikainen

Opinnäytetyö
Marraskuu 2015
Bioanalytiikan koulutusohjelma



TIIVISTELMÄ

Tampereen ammattikorkeakoulu
Bioanalytiikan koulutusohjelma

RAATIKAINEN, JENNI:

Laktaattimääritys kemian analysaattorilla ja verikaasuanalysaattorilla

Opinnäytetyö 51 sivua, joista liitteitä 5 sivua
Marraskuu 2015

Normaalisti hapellisissa oloissa glukoosi hajoaa aineenvaihdunnan seurauksena solujen käyttöön vapautuvaksi energiaksi, vedeksi ja hiilidioksidiksi. Hapettomissa oloissa glukoosi kuitenkin hajoaa laktaatiksi. Sydämen, verenkierron tai keuhkojen vakava toimintahäiriö voi aiheuttaa kudosten vähentynyttä hapensaantia, joka voi johtaa anaerobiseen aineenvaihduntaan soluissa ja laktaatin muodostumiseen. Tämän vuoksi laktaatti on yleinen tutkimus esimerkiksi teho-osastolla. Laktaattia voi muodostua elimistöön myös raskaan liikuntasuorituksen aikana, kun lihakset eivät saa riittävästi happea aerobiseen aineenvaihduntaan. Yleisimmät laktaatin määrittämenetelmät ovat kliinisen kemian analysaattorilla tehtävä fotometrinen mittausta ja amperometrinen entsyymielektrodimääritys verikaasuanalysaattorilla.

Tässä opinnäytetyössä mitattiin laktaattipitoisuuksia potilailta kerätyistä plasmanäytteistä. Näytteitä kerättiin 50 potilaalta. Jokaiselta otettiin verinäyte kolmeen verinäyteputkeen, yksi näyte litium-hepariiniputkeen ja kaksi laktaatin määrittämiseen tarkoitettuun NaF-K-oksalaattiputkeen. Toinen laktaattiputki laitettiin heti näytteenoton jälkeen jäihin ja toinen jätettiin huoneenlämpöön. Näistä kaikista näytteistä mitattiin laktaattipitoisuus sekä kliinisen kemian analysaattorilla että verikaasuanalysaattorilla. Työn toimeksiantajan eli Fimlab Laboratoriot Oy Keski-Suomen yksikön kliinisen kemian laboratoriossa laktaatti määritetään nykyisin kylmänäytteenä otetusta laktaattiputken plasmasta kemian analysaattorilla. Tässä työssä oli tavoitteena selvittää, soveltuuko laktaattiputken näyte laktaatin määrittämiseen verikaasuanalysaattorilla. Tällaista uuden menetelmän vertailua jo käytössä olevaan menetelmään kutsutaan verifiointiksi. Tämän lisäksi työssä selvitettiin eri putkien antamien tulosten eroavaisuutta sekä kylmänäytteenoton vaikutusta tulokseen.

Tulosten perusteella kliinisen kemian analysaattori ja verikaasuanalysaattori mittasivat kaikki laktaattiputkiin otetut näytteet erittäin hyvin toisiaan vastaavasti. Verikaasuanalysaattorilla huomattavat käytännön ongelmat laktaattiputkinäytteiden mittaustilanteissa tosin voivat olla esteenä laktaattimäärityksen teolle verikaasuanalysaattorilla. Litium-hepariiniputkien laktaattitulokset olivat myös huomattavasti korkeampia kuin vastaavien kylmänäytteenä laktaattiputkeen otettujen näytteiden. Tällä perusteella käytössä oleva laktaattiputki säilyttää laktaattipitoisuuden litium-hepariiniputkea paremmin. Kylmänäytteenoton poisjättämisellä ei ollut kovin suurta vaikutusta laktaattipitoisuuteen.

Asiasanat: laktaatti, verikaasuanalysaattori, kliinisen kemian analysaattori, verifiointi

ABSTRACT

Tampereen ammattikorkeakoulu
Tampere University of Applied Sciences
Degree Programme in Biomedical Laboratory Science, Jyväskylä 12SABIOj

RAATIKAINEN, JENNI:

Detection of Lactate with a Clinical Chemistry Analyser and a Blood Gas Analyser

Bachelor's thesis 51 pages, appendices 5 pages

November 2015

Normally glucose is converted to carbon dioxide, water and energy in cells when there is enough oxygen available. In an anaerobic environment, however, glucose can convert to lactate which cannot so easily be used by the cells. The oxygen level may decrease in the tissues if there is a severe malfunction in the heart, circulation or in the lungs. This can lead to anaerobic metabolism and formation of lactate in the tissues. This is why lactate is commonly measured with laboratory tests in intensive care units. Lactate can also be produced during heavy exercise if the muscles receive insufficient amounts of oxygen for the provision of aerobic metabolism of glucose. The most common methods for measuring lactate are photometric measurements with a clinical chemistry analyser or amperometric measurements of enzyme electrodes with a blood gas analyser.

In this thesis lactate concentrations were measured from plasma samples which were collected from 50 patients. From each patient three test tubes of blood were collected. One was a lithium-heparinized test tube, and two test tubes contained NaF-K-oxalate which is commonly used in lactate test tubes. One of the lactate test tubes was put in ice right after the blood sample collection, and the other lactate test tube was left in room temperature. Lactate concentration was measured in all the samples both with a clinical chemistry analyser and with a blood gas analyser. In the clinical chemistry laboratory of Fimlab Laboratoriot Oy in Jyväskylä, lactate is currently measured with a clinical chemistry analyser from the plasma in the lactate test tubes placed in ice after sample collection. The purpose in this thesis was to examine if lactate could be measured with a blood gas analyser from the plasma in the lactate test tubes. The comparison of this kind of a new method with a method already in use is called verification. This thesis also examined how the lactate results varied between different test tubes and the impact of keeping the samples in ice on the results.

According to the results, all the samples taken into the lactate test tubes were measured with practically equal results by both analysers. However, many technical problems during the measurements with the blood gas analyser might complicate the use of the blood gas analyser in lactate measurements. Moreover, the lactate test tubes hold the lactate level better than the lithium-heparinized test tubes because the lactate concentrations were much higher in the lithium-heparinized test tubes than in the lactate test tubes placed in ice. The lactate results differed very little from each other when the results between the tubes kept in ice and those in room temperature were compared.

Key words: lactate, blood gas analyser, clinical chemistry analyser, verification

SISÄLLYS

1	JOHDANTO	5
2	LAKTAATTI	7
2.1	Glukoosiaineenvaihdunta ja laktaatin muodostuminen elimistössä	7
2.2	Laktaatin kliininen merkitys	8
2.2.1	Laktaatti laboratoriodiagnostiikassa	9
2.2.2	Laktaatti liikuntalääketieteessä	10
3	LAKTAATIN MÄÄRITTÄMINEN LABORATORIOSSA	12
3.1	Laktaattimääritykseen soveltuvat näytemuodot	12
3.2	Laktaattimäärityksessä huomioon otettavia preanalyttisiä tekijöitä	12
3.3	Laktaattimääritysmenetelmät	14
3.3.1	Fotometrinen menetelmä	14
3.3.2	Entsyymielektrodimenetelmä verikaasuanalyssaattorilla	15
3.3.3	Perkloorihappomenetelmä kokoverestä	16
4	LAATU KLIINISESSÄ LABORATORIOSSA	17
4.1	Laboratorion laatu	17
4.1.1	Validointi ja verifiointi	17
4.1.2	Sisäinen laadunohjaus ja ulkoinen laadunvarmistus	18
4.2	Menetelmä- ja laitekoestus	19
5	OPINNÄYTETYÖN TARKOITUS JA TAVOITTEET	22
5.1	Tarkoitus ja tavoitteet	22
5.2	Tutkimuskysymykset	23
6	TUTKIMUKSEN TOTEUTUS	24
7	TUTKIMUKSEN TULOKSET JA JOHTOPÄÄTÖKSET	27
7.1	Analysaattorien tulostasovertilau	28
7.2	Kylmänäytteenoton vaikutus laktaattipitoisuuteen	34
7.3	Näyteputken säilöntäaineen vaikutus laktaattipitoisuuteen	36
8	POHDINTA	39
8.1	Tutkimustulosten pohdinta	39
8.2	Kvantitatiivisen tutkimuksen luotettavuus ja eettisyys	41
	LÄHTEET	43
	LIITTEET	47
	Liite 1. Eri laboratoriodien laktaattimääritysmenetelmiä	47
	Liite 2. Ohje laktaattinäytteiden keräystä varten	49
	Liite 3. Laktaattimittaustulokset	50

1 JOHDANTO

Potilaiden terveydentila vaatii toisinaan nopeaa hoitoa ensihoidossa tai tehostettua valvontaa tehohoidossa. Myös päivystysosastoilla suoritetaan potilaiden välitöntä ja kiireellistä hoitoa. Erityisesti tehohoidolle on ominaista potilaan tilan kriittisyys sekä hoitajien hallitseva rooli hoitotilanteissa. Potilaan hoito ja tarkkailu vaativat potilaan tilan jatkuvaa valvontaa sekä elintoimintojen monitorointia usein erilaisten apuvälineiden avulla. (Blomster ym. 2001, 57; Sopanen 2008, 60.) Laboratoriotutkimukset ovat yksi erittäin tärkeä apuväline potilaan tilan seurannassa ja yleisimpiä tehohoidossa käytettäviä laboratoriotutkimuksia ovat verikaasuanalyysi ja laktaattimääritys, joita tehdään usein vieritutkimuksina. (Seppä 2013, 123.) Vieritutkimukseksi määritellään laboratorioalan tutkimukset, joita tehdään tavanomaisen laboratorioympäristön ulkopuolella potilaan lähellä tai vieressä, hoitoyksikön toimesta ja vastuulla (Linko ym. 2009, 276).

Vieritutkimusten tärkeys korostuu juuri tehohoidossa, jossa laboratoriovastauksen saaminen välittömästi vaikuttaa suoraan potilaan hoitoon ja sen aikaviiveeseen. Usein vieritutkimuksena tehtäviä määrityksiä voidaan suorittaa myös perinteisinä laboratoriotutkimuksina, mutta silloin vastauksen saamiseen kuluu paljon enemmän aikaa. Kun tutkimus tehdään vieritutkimuksena osastolla, säästetään erityisesti aikaa kun näytettä ei tarvitse kuljettaa laboratorioon, mutta myös muu ajansäästö on olennaista, sillä erityisesti tehohoidossa jokainen säästyvä sekunti ja minuutti ovat tärkeitä. (Seppä 2013, 124.)

Laktaattimääritystä käytetään usein elimistön hapetustilan seurannassa kuvaamassa elimistön hapenpuutetta. Normaalisti laktaattia muodostuu elimistön aineenvaihdunnan seurauksena maitohaposta anaerobisen eli hapettoman energiantuotannon seurauksena. Lihakset käyttävät energiavarastona glykokeenia, josta normaalisti vapautuu hapellisissa oloissa glukosia. Jos lihaskudoksen käytettävissä ei ole riittävästi happea, glykokeenin hajoaminen pysähtyy ennenaikaisesti ja muodostuu laktaattia. (Penttilä 2004b, 205; Heinonen 2013, 140.) Tehohoidon lisäksi laktaattia mitataan paljon rasisufysiologiassa liikuntaan ja urheiluun liittyvissä mittauksissa. Lihaksista vapautuvalla ja verenkiertoon siirtyvällä laktaatilla on keskeinen rooli mm. urheilijoiden valmennuksiin liittyvissä testeissä. (Heinonen 2013, 140.)

Samaa asiaa (esim. laktaattia) voidaan toisinaan määrittää useilla eri menetelmillä ja laitteilla. Laboratorioanalysaattorit kehittyvät ja uusia määritysmenetelmiä kehitellään jatkuvasti, mutta näitä uusia analysaattoreita ja menetelmiä ei voida kuitenkaan ottaa käyttöön laboratoriossa ilman niiden toimintakyvyn arviointia. Tällä selvitetään niiden soveltuvuus mittaamaan juuri haluttua asiaa sekä samalla tarkastellaan niiden tulostason oikeellisuutta. Tällaista toimintakyvyn arviointia kutsutaan usein verifioinniksi tai laitekoetukseksi. Analysaattorin verifioinnilla voidaan tarkastella sen antamaa tulostasoa ja voidaan siten varmistua verifioitavan menetelmän soveltuvuudesta potilasnäytteiden analysointiin. Lisäksi verifioinnilla voidaan todeta menetelmälle asetettujen laatukriteerien toteutuminen mm. päivittäisten kontrollinäytteiden avulla. (Linko 2004, 60–62.)

Keski-Suomen keskussairaalassa on verikaasuanalysaattoreita laboratorion lisäksi myös mm. teho-osastolla, heräämössä ja päivystysosestolla. Tässä opinnäytetyössä halutaan verifioida Fimlab Laboratoriot Oy:n Keski-Suomen yksikön verikaasuanalysaattori laktaatin osalta. Tällä hetkellä laboratoriossa mitataan laktaattia kemian analysaattorilla plasmanäytteestä sekä verikaasuanalysaattorilla kapillaari- tai ruiskunäytteenä kokoverestä. Nämä analysaattorit mittaavat eri näytemuodon lisäksi laktaattia eri menetelmillä. Verinäyte kemian analysaattorilla tehtävää laktaattimäärittystä varten otetaan nykyään kylmänäytteenottona, mikä sinällään hidastaa ja hankaloittaa näytteenottoa. Tämän työn tavoitteena on selvittää, voitaisiinko laktaattimäärittys siirtää laboratorion kemian analysaattorilta verikaasuanalysaattorille plasmanäytteestä tehtävänä määrittäksenä. Lisäksi halutaan selvittää mahdollista kylmänäytteenotosta luopumista sekä vaihtoehtoa nykyisin käytössä olevalle näyteputkelle. Tässä opinnäytetyössä tarkastellaan verikaasuanalysaattorin laktaattiverifioinnin tulosten lisäksi laktaattimäärittäykseen vaikuttavia preanalyttisiä tekijöitä, kuten eri näytemuotoja ja näyteputkien säilöntäaineiden merkitystä. Lisäksi kirjallisuusuudessa käydään lyhyesti läpi laktaatin merkitystä ja klinisen laboratorion laatu.

2 LAKTAATTI

2.1 Glukoosiaineenvaihdunta ja laktaatin muodostuminen elimistössä

Solujen aineenvaihdunnassa eli metaboliassa erilaisten biokemiallisten reaktioiden seurauksena solut voivat hajottaa varastoituja tai muualta saatuja molekyylejä. Tämän molekyylien hajotuksen tarkoituksena on tuottaa energiaa tai saada rakennusaineita uusien molekyylien valmistukseen. Yksi yleinen solujen energianlähteenä käyttämä ryhmä ovat hiilihydraatit. Aluksi pitkäketjuiset hiilihydraatit pilkotaan lyhemmiksi eli polysakkaridit monosakkarideiksi ja ne muutetaan glykolyysiin sopiviksi glukoosijohdannaisiksi. Lopulta hiilihydraatit hajotetaan pyruvaatiksi eli palorypälehapoksi. (Heino & Vuento 2009, 93–94.) Glykolyysi on nimitys koko aineenvaihduntareitistä, jossa glukoosi muuttuu pyruvaatiksi (Pratt & Cornely 2011, 325).

Glykolyysi on kymmenen kohtaa sisältävä aineenvaihduntareitti, joka tapahtuu solun sytoplasmassa eli solulimassa eri entsyymien vaikutuksesta. Glykolyysin lähtöaineena voidaan käyttää glukoosia tai glycogeeniä, joka on glukoosin varastomuoto eläinsoluissa. (Heino & Vuento 2009, 96; Pratt & Cornely 2011, 325–326.) Glykolyysin ensimmäiset viisi vaihetta ovat energiaa kuluttavia vaiheita ja loput viisi energiaa tuottavia vaiheita (Pratt & Cornely 2011, 328, 332). Energiaa tuottavien ja energiaa kuluttavien prosessien välillä yhdistävänä tekijänä toimii pienikokoinen orgaaninen molekyyli, joka osallistuu välittäjänä molempiin reaktioihin. Tämä molekyyli koostuu mm. sokeriosasta sekä eri määristä fosfaattiryhmiä. Adenosiinitrifostaatti (ATP) sisältää kolme fosfaattiryhmää sokeriin liittyneenä ja se pyrkii luovuttamaan fosfaattiryhmiään, muodostaen joko pysyvää kaksifosfaattiryhmää sisältävää adenosiinidifosfaattia (ADP) tai vain yhden fosfaattiryhmän sisältävää adenosiinimonofosfaattia (AMP). (Heino & Vuento 2009, 13–14.)

Glykolyysin ensimmäisissä energiaa kuluttavissa vaiheissa tapahtuu erilaisia entsymaattisia reaktioita, joiden seurauksena glukoosi muuttuu glyseraldehydifosfaatiksi. Nämä vaiheet ovat kuluttaneet energiaa 2 ATP:tä. Tämän jälkeen glyseraldehydifosfaatti muuttuu taas eri entsyymien vaikutuksesta viiden eri vaiheen kautta pyruvaatiksi ja nämä

reaktiot puolestaan vapauttavat energiaa 4 ATP:tä. Täten glukoosin hajoaminen ja muuttuminen pyruvaatiksi tuottaa kokonaisuudessaan 2 ATP:tä energiaa solujen käyttöön. (Heino & Vuento 2009, 96–98; Pratt & Cornely 2011, 322, 328.)

Se mitä pyruvaatille tapahtuu solussa seuraavaksi, riippuu mm. solun hapenkulutuksesta. Aerobisissa olosuhteissa toimivat solut voivat hapettaa pyruvaattia edelleen hapen läsnä ollessa muodostaen asetyyli-koentsyymi A:ta, joka sitten voi hapettua edelleen sitruunahappokierrossa ja oksidatiivisessa fosforylaatiossa ATP-energiaksi, hiilidioksidiksi ja vedeksi. (Heino & Vuento 2009, 99–100; Holappa 2010, 8.) Anaerobisissa olosuhteissa solut turvautuvat fermentaatioreaktioihin. Esimerkiksi urheilijan lihakset voivat joutua toimimaan anaerobisissa olosuhteissa rasituksen aikana verenkierron ollessa liian tehoton tuomaan riittävästi happea lihasten käytettäväksi. Maitohappofermentaatioissa pyruvaatti pelkistyy reaktiossa laktaatiksi laktaattidehydrogenaasientsyymien vaikutuksesta. (Heino & Vuento 2009, 100.) Muodostunut laktaatti siirtyy soluista verenkierron välityksellä maksaan, jossa se hapettuu uudelleen pyruvaatiksi laktaattidehydrogenaasientsyymien vaikutuksesta. Muodostuneesta pyruvaatista voidaan valmistaa maksassa glukoosia, joka palautuu lihasten käyttöön. (Pratt & Cornely 2011, 504.) Tätä glukoosin muodostusta yksinkertaisista yhdisteistä, kuten esim. pyruvaatista ja laktaatista, kutsutaan glukoneogeneesiksi. Sitä tapahtuu eniten maksassa ja se on ehdottoman tärkeä reaktio soluille, sillä aivot ja hermokudos käyttävät energianlähteenä ainoastaan glukoosia. (Heino & Vuento 2009, 129.)

2.2 Laktaatin kliininen merkitys

Laktaattia mitataan hyvin erilaisessa fyysisessä kunnossa olevilta henkilöiltä, koska sitä määritetään paljon kriittisesti sairailta potilailta, mutta toisaalta se on paljon käytetty määrittäminen urheilijoiden keskuudessa. Yhteistä näille ryhmille on kuitenkin kehossa olevan hapen vähäisen määrän seurauksena elimistöön muodostuva laktaatti. Syitä elimistön hapen puutteeseen ja laktaatin muodostumiseen on monia.

2.2.1 Laktaatti laboratoriodiagnostiikassa

Plasman normaali laktaattipitoisuus vaihtelee hieman näytemuodon ja määrittämenetelmän mukaan, mutta esimerkiksi Fimlab Laboratoriot Oy:n (2012) tutkimusohjekirjan mukaan plasman normaali laktaattipitoisuus on alle 2,8 mmol/l (millimoolia litrassa). Jos laktaattipitoisuus nousee arvoon joka on yli 5 mmol/l, voidaan puhua jo merkittävästä laktaattiasidoosista (Sacks 2006, 877). Laktaattipitoisuuden on huomattu korreloivan voimakkaasti potilaan ennusteen kanssa, sillä arvon ollessa yli 6 mmol/l, merkitsee se huonoa ennustetta potilaan kannalta (Keslab 2014). Laktaattimääritys onkin tämän vuoksi hyvin usein tehohoidossa käytetty määrittäminen ja siitä on tehty lukuisia tutkimuksia, joissa on havaittu selvä yhteys kohonneen laktaattipitoisuuden ja potilaan eloonjäämisen välillä (Rashkin, Bosken & Baughman 1985; Bakker, Schieveld, Brinkert 2002, 567–568, 572; Jansen, van Bommel & Bakker 2009). Laktaattipitoisuuden noususta johtuva laktaattiasidoosi johtaa kuolemaan jopa 60 % tapauksista Sacks:in (2006, 877) mukaan ja Bakker ym. (2002, 568) toteavat tilan kuolleisuuden olevan jopa 80 %.

Toimintahäiriö sydämessä, verenkierrossa tai keuhkoissa voi johtaa paikalliseen tai yleiseen kudoshypoksiaan eli kudosten vähentyneeseen hapensaantiin. Tämä johtaa anaerobiseen aineenvaihduntaan elimistön soluissa ja johtaa laktaatin muodostumiseen sekä sen kertymiseen elimistössä. Joissain tilanteissa tämä voi johtaa maitohappo- eli laktaattiasidoosiin. (Uotila 2010, 115.) Harvinaisempia laktaattiasidoosin ja plasman lisääntyneen laktaatin syitä voivat olla jonkin spesifisen entsyymin puutostila tai jokin synnynnäinen aineenvaihduntasairaus. (Uotila 2010, 115; Keslab 2014.) Vaikea laktaattiasidoosi saattaa kehittyä myös monien kroonisten sairauksien yhteydessä, kuten esim. leukemiassa ja myös diabeetikoilla voi munuaisten- ja/tai sydämen vajaatoiminnan yhteydessä esiintyä voimakasta laktaatin muodostusta elimistössä. Laktaattiasidoosia voivat aiheuttaa myös erilaiset lääkkeet ja myrkyt sekä sitä voi esiintyä verenmyrkytyksen eli sepsiksen yhteydessä. Myös shokki voi aiheuttaa merkittävää laktaattipitoisuuden nousua perifeerisen verenkierron heikkenemisen vuoksi. (Nguyen ym. 2004; Sacks 2006, 877; Keslab 2014.)

2.2.2 Laktaatti liikuntalääketieteessä

Tehohoidon lisäksi laktaatti liittyy hyvin olennaisesti liikuntalääketieteeseen, sillä laktaattipitoisuuden mittaaminen on liikuntafysiologian perusmittauksia. Laktaatilla on ollut urheilun parissa huono maine pitkään, sillä sitä pidettiin anaerobisen energiantuotannon haitallisena ja väsymystä aiheuttavana lopputuotteena, joka myös rajoittaa suorituskkyä ja aiheuttaa lihaskipua. Vasta viime vuosikymmenien aikana on opittu, että lihaksista vapautuvalla ja verenkiertoon siirtyvällä laktaatilla on keskeinen rooli rasisfysiologiassa. Laktaattia pidetäänkin nykyään tärkeänä osana aineenvaihduntaa, jossa sillä on keskeinen merkitys elimistön energiantuotannossa. (Heinonen 2013, 140, 142; Lehtinen 2013, 53.)

Usein on esitetty, että laktaattia kertyy elimistöön fyysisen työn aikana hapenpuutteesta johtuen. Laktaattia voi kuitenkin muodostua elimistössä myös tilanteessa, kun happea on riittävästä käytettävissä ns. nopeassa glykolyysissä, jossa glukoosimolekyylä hajoaa nopeasti tuottaen ATP:tä ja laktaattia. Tästä syystä nopeita lihassoluja käytettäessä muodostuu aina laktaattia ja laktaattia todetaan verenkierrassa ilman rasisustakin. Kuormituksen ja fyysisen työn aikana elimistön laktaattipitoisuus nousee entisestään, koska nopean glykolyysin osuus energiantuotannosta kasvaa lisäten laktaatin pitoisuutta. (Heinonen 2013, 141.) Laktaattipitoisuus voi voimakkaassa lihasrasituksessa kohota jopa 10–20 -kertaiseksi lepotilaan verrattuna, mutta terveellä henkilöllä pitoisuus laskee muutamassa tunnissa lepotasoon (alle 2,5 mmol/l) rasituksen jälkeen (Blomster ym. 2001, 122).

Laktaatin pitoisuus veressä riippuu laktaattia tuottavien ja sitä poistavien mekanismien välisestä erosta ja sen aineenvaihduntaan osallistuukin rasituksen aikana useita elimiä. Laktaattia käyttävät energianlähteenä erityisesti lihassolut, mutta myös sydän ja munuaiset hyödyntävät laktaattia energianlähteenä. (Heinonen 2013, 141.) Vaikka aivot käyttävät ensisijaisena energianlähteenä glukoosia, on arveltu että kovassa fyysisessä kuormituksessa aivot pystyisivät hyödyntämään myös jossain määrin laktaattia (Vuori & Strandberg 2013, 398). Laktaatin aineenvaihdunnan säätelyyn osallistuvat lisäksi myös iho ja ohutsuoli. Osa verenkierrassa kulkevasta laktaatista kulkeutuu maksaan jossa siitä muokataan glukoosia, mutta osa siitä muokataan glykokeeniksi ja varastoidaan lihaksiin ja maksaan. (Heinonen 2013, 141.)

Kestävyysurheilun on arveltu vähentävän lihasten laktaatin tuotantoa, koska harjoittelun tuloksena verenkiertoon päätyy aikaisempaa pienempiä laktaattipitoisuuksia ja toisaalta

laktaatin hyväksikäyttö voi olla tehostunut (Heinonen 2013, 141–142). Tästä syystä laktaattia usein pidetäänkin rasituksen mittarina ja sen avulla pystytään määrittämään helposti urheilijan harjoitustaso. Kestävyysurheilijat saattavat jopa harjoitella ns. laktaattiharjoittelun avulla, jolla pyritään parantamaan laktaatin sietokykyä ja pyritään totuttamaan keho kovan hapotuksen alla urheilemiseen. Laktaattiharjoittelussa harjoitellaan anaerobisen kynnyksen tuntumassa ja harjoittelussa hyödynnetään myös laktaattimittauksia. (Lehtinen 2013, 53–55.)

3 LAKTAATIN MÄÄRITTÄMINEN LABORATORIOSSA

3.1 Laktaattimääritykseen soveltuvat näytemuodot

Ihanteellisin laktaattimittaukseen käytettävä näytemuoto olisi valtimoveri, mutta yleisempää on käyttää laskimoverta tai ihopistoksena otettua kapillaarinäytettä. Laktaattia voidaan määrittää kokoverestä tai plasmasta, mutta on huomioitava että eri näytemuotojen tulokset poikkeavat toisistaan laktaatin pitoisuuden ollessa eri solujen ulkopuolella ja sisäpuolella. (Toffaletti ym. 1992; Heinonen 2013, 143.) Roche Diagnostics:in (2013) mukaan seeruminäytteitä ei tule käyttää laktaattimäärityksiin kemian analysaattorilla, mutta aivo-selkäydinnesteestä eli likvorista laktaattia voidaan myös määrittää. Hapen puute elimistössä sai aikaan laktaatin määrän lisääntymisen veressä, mutta likvorin laktaattipitoisuus kasvaa yleensä bakteerien aiheuttamissa aivokalvon tulehduksissa, joten se ei ole täysin verrattavissa verinäytteen laktaattipitoisuuteen (Penttilä 2004a, 165).

Huslab:in (2015) tutkimusohjekirjan mukaan laktaattia voidaan määrittää likvorin ja veren lisäksi myös pleuranesteestä (keuhkopussin nestettä), nivelnesteestä ja virtsasta. Virtsasta voidaan erikseen määrittää L- ja D-laktaattia, kun yleisesti kaikki laboratorioden laktaattimääritykset mittaavat L-laktaattia, joka on laktaatin pääasiallinen ihmisessä esiintyvä muoto. D-laktaatti on mm. bakteereissa esiintyvä laktaatin muoto. (Huslab 2015.)

3.2 Laktaattimäärityksessä huomioon otettavia preanalyttisiä tekijöitä

Potilaan ohjaukseen liittyviä preanalyttisiä tekijöitä, jotka tulee ottaa huomioon laktaatinäytettä otettaessa, ovat erityisesti rasitus ja paasto. Fyysinen rasitus nostaa nopeasti laktaattipitoisuutta ja siksi suositellaan n. 30 minuutin lepoa ennen laktaatinäytteenottoa. (Roche Diagnostics 2013.) Huslab (2014) suosittelee kahden tunnin lepoa ennen näytteenottoa, jotta saataisiin varmimmin oikea tulos. Young, Bermes ja Haverstick (2006, 43) suosittelevat välttämään nyrkin puristelua näytteenoton aikana jotta laktaattipitoisuus ei nouse ja Sacks:in (2006, 878) mukaan vuodepotilaalla jopa jalkalihasten liikuttaminen voi merkittävästi vaikuttaa tulokseen. Kun laktaattipitoisuutta mitataan plasmasta, suosituksena on paastonäyte eli potilas on ilman ravintoa yön yli (Seppälä & Tuokko 2010,

23). Toisaalta tämä paasto ei ole aivan välttämätön, sillä esim. Huslab (2014) määrittää laktaattia plasmasta päivystystilanteissa ja lapsilta ilman paastoakin. Verinäyte laktaattimääritykseen tulisi ottaa ilman staasia tai mahdollisuuksien mukaan sen käyttöaika rajoitetaan mahdollisimman lyhyeksi (Roche Diagnostics 2013; Keslab 2014).

Näyteputken valinnalla on suuri merkitys laktaattimäärityksissä, sillä glukoosipitoisuus laskee ja laktaattipitoisuus vastaavasti nousee nopeasti näyteputkissa glykolyysin seurauksena (Väisänen, Eskelinen & Halonen 2002, 48; Roche Diagnostics 2013). Laktaattimäärityksiin käytetään usein plasmaputkia joissa on natriumfluoridi-kaliumoksalaattia (NaF-K-oksalaatti) (Keslab 2014) tai litium-hepariinia (Fimlab Laboratoriot 2012). Litium-hepariiniputkien hepariinin litiumsuola toimii näyteputkissa antikoagulanttina estäen veren hyytymisen, mutta se ei toimi säilöntäaineena eikä näin estä glykolyysiä oksalaattimäärityksissä (Wiener 1995, 483; Young ym. 2006, 47). Glykolyysin estäminen on tärkeää laktaattimäärityksissä ja siksi suositeltavampaa on käyttää NaF-K-oksalaattiputkia (Roche Diagnostics 2013). Näiden putkien natriumfluoridi (NaF) on yksinään heikko antikoagulantti mutta toimii glukoosinäytteiden säilöntäaineena ja estää glykolyysiä. Kaliumoksalaatti puolestaan estää yksinään verta hyytymästä muodostamalla kalsium-ionien kanssa liukenemattoman kompleksin. Yhdessä nämä kaikki, NaF ja K-oksalaatti, toimivat tehokkaana glykolyysin estäjänä estämällä glykolyysiin liittyvien entsyymien toimintaa. (Young ym. 2006, 48.) Glykolyysin estämisen tehostamiseksi näytteen erittäin huolellinen sekoittaminen näytteenoton jälkeen on tärkeää ja putkea tulisi sekoittaa noin 15 kertaa heti näytteenoton jälkeen (Keslab 2014).

Solut käyttävät veressä olevaa glukoosia vielä näytteenoton jälkeenkin, joten glykolyysin estämiseksi laktaattinäyte tulisi ottaa mielellään ns. kylmänäytteenottona. Laktaattipitoisuus voi nousta huoneenlämmössä jo muutamassa minuutissa ja Andersenin ym. (2003, 453) mukaan kylmänäytteenotolla voidaan glykolyysi estää n. 90 %:sti, jolloin laktaatin muodostuminen estyy lähes kokonaan. Kylmänäytteenotossa näyteputki säilytetään kylmässä (+ 4 °C) verinäytteenotosta aina plasman erottamiseen tai kokoverinäytteen analysointiin asti. Näyte tulee myös kuljettaa laboratorioon kylmässä. Käytännössä tämä kylmänäytteenotto tarkoittaa näyteputkien säilyttämistä jäissä tai jäisessä vedessä näytteenoton jälkeen. (Young ym. 2006, 54.) NaF-K-oksalaattiputki estää glykolyysin litium-hepariiniputkia paremmin, joten kylmänäytteenotto erityisesti hepariiniputkia käytettäessä on tarpeen glykolyysin hidastamiseksi, mutta kylmänäytteenottoa voi käyttää myös NaF-

K-oksalaattiputkille (Roche Diagnostics 2013; Keslab 2014). Tähän liittyen laktaattinäytteet tulisi sentrifugoida sekä erottaa plasma soluista mahdollisimman pian näytteenoton jälkeen (Fimlab Laboratoriot 2012; Huslab 2014; Keslab 2014; Tykslab 2014). Roche Diagnostics:in (2013) mukaan plasma tulisi erottaa verisoluista erityisesti hepariiniputkia käytettäessä jo 15 minuutin sisällä näytteenotosta.

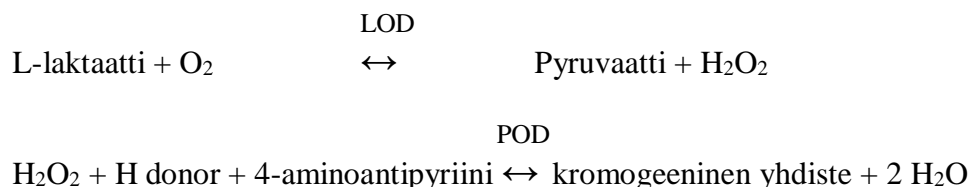
3.3 Laktaattimääritysmenetelmät

Laktaattimääritysmenetelmän valintaan vaikuttaa ensisijaisesti käytettävä näytemuoto ja tuloksen kiireellisyys. Laktaattia voidaan määrittää fotometrisesti plasmasta ja kokove-
restä kemian analysaattorilla tai amperometrisesti verikaasuanalysaattorilla.

3.3.1 Fotometrinen menetelmä

Fotometria on mittausmenetelmä, jossa käytetään hyväksi valon läpäisevyyttä tai imeytymistä aineeseen. Mitattavan liuoksen läpi johdetaan valoa, joka on aallonpituudeltaan sellaista, jota mitattava analyytti absorboi eli imee itseensä. Kun määritettävän aineen pitoisuus liuoksessa kasvaa, reaktioliuoksen värin intensiteetti voimistuu ja liuoksen läpäisevän valon määrä vähenee. Tämä tarkoittaa puolestaan absorbanssin eli valon imeytymisen lisääntymistä mitattavassa liuoksessa ja yleensä liuoksen pitoisuus on suoraan verrannollinen valon absorbanssin suuruuteen. (Åkerman & Jokela 2010, 55–56.)

Plasman laktaatin fotometrinen määrittäminen kemian analysaattoreilla perustuu entsyymaattiseen reaktioon, joka on esitetty kuviossa 1. Reaktiossa L-laktaatti hapetetaan pyruvaatiksi laktaattioksidiasientsyymillä (LOD) avulla ja reaktiossa muodostuu vetyperoksidia (H_2O_2). Tämän jälkeen muodostunut vetyperoksidi reagoi 4-aminoantipyriinin kanssa peroksidiaasin (POD) katalysoimassa reaktiossa. Reaktiossa muodostuu kromogeeninen eli värillinen yhdiste ja tämän muodostuneen värin intensiteetti eli voimakkuus on suoraan verrannollinen alkuperäisen näytteen laktaatin määrään. Värin intensiteetti mitataan fotometrisesti aallonpituuksilla 660 ja 700 nm (nanometri). (Keslab 2011; Roche Diagnostics 2013.)

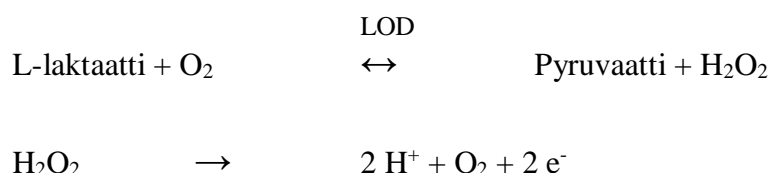


KUVIO 1. Laktaattimäärityksen kemialliset reaktiot fotometrisessä mittauksessa (Roche Diagnostics 2013)

3.3.2 Entsyymielektrodimenetelmä verikaasuanalysaattorilla

Laktaattia voidaan kemian analysaattorin lisäksi mitata verikaasuanalysaattorilla, jossa on laktaatin mittaamiseen tarvittava erillinen elektrodi tai sensorikasetti, joka sisältää mittaamiseen tarvittavan laktaattisensorin. Näytteenä käytetään useimmiten laskimo- tai valtimokokoverta tai ihopistoksena otettua kapillaarivertä. (Radiometer 2014.) Verikaasuanalysaattorin laktaattimittaus perustuu samaan laktaatin hapetusreaktioon kuin fotometrinen määrittäminen. Ainoa ero on, että verikaasuanalysaattorilla reaktiossa muodostuvan vetyperoksidin mittaus tapahtuu amperometrisesti, ei fotometrisesti.

Amperometrisessä laktaattimittauksessa näyte on kosketuksissa mittaussensorin tai elektrodin kanssa, jolloin muodostuu pieni, mitattavissa oleva sähkövirta. Näytteessä olevat laktaattimolekyylit muutetaan laktaattioksidaasin avulla vetyperoksidiksi ja tämän jälkeen vetyperoksidi hapetetaan hapeksi (kuvio 2). Tässä reaktiossa vapautuu hapen lisäksi elektroneja, joiden aikaansaama sähkövirta voidaan mitata. Muodostuvan sähkövirran määrän on suoraan verrannollinen vetyperoksidimäärään ja siten myös näytteen laktaattipitoisuuteen. (Radiometer 2014.)



KUVIO 2. Laktaattimäärityksen kemialliset reaktiot verikaasuanalysaattorilla (Radiometer 2014)

Yleensä verikaasuanalysaattorilla käytetään litium-heparinisoituja näytteitä, jotka voivat olla putkessa, kapillaarissa tai ruiskussa. Islab (2014) ja Fimlab Laboratoriot Oy (2012) käyttävät tutkimusohjekirjojensa mukaan laktaattimäärityksiin litium-heparinisoitua plasmaa tai hepariini-ruiskua. NordLab:illa (2014a) on oma ohjeensa teholla tehtävälle päivystystutkimukselle, jolloin näyte otetaan kalsiumtitrattuun litium-hepariini-ruiskuun. Tykslab (2014) ja Huslab (2014) puolestaan käyttävät NaF-K-oksalaattiputkia, mutta heidän määritysmenetelmänsä on fotometrinen, ei verikaasuanalysaattorilla suoritettava. Triolab:in tuotepäällikkö Kimmo Koppisen (2014) mukaan NaF-K-oksalaattiputkia voi halutessaan käyttää laktaatin määrittämiseen plasmasta verikaasuanalysaattorilla, sillä tämän antikoagulantin ei pitäisi olla esteenä määrittämiselle, eikä sen tulisi vahingoittaa verikaasuanalysaattorin mittaussensoreita tai –elektrodeja. Radiometer (2014) kuitenkin suosittelee käyttämään verikaasuanalysaattorinäytteissä ainoana antikoagulanttina litium-hepariinia. Natriumfluoridi (NaF) voi mahdollisesti aiheuttaa virheellisen matalia laktaattituloksia (Radiometer 2014).

3.3.3 Perkloorihappomenetelmä kokoverestä

Laktaattia voidaan määrittää kokoverestä verikaasuanalysaattorin lisäksi myös kemian analysaattorilla, mutta tämä menetelmä on huomattavasti monivaiheisempi kuin aiemmin esitetyt menetelmät. Kokoverestä suoritettavassa laktaattimäärityksessä punasolut tulee rikkoa eli hemolysoida perkloorihapolla ennen määrittämistä. Tällä estetään verisoluissa tapahtuvan glykolyysin aiheuttama laktaattipitoisuuden virheellinen suureneminen. Samalla punasoluja estetään imemästä ympäristöstään laktaattia sisäänsä. (Heinonen 2013, 143.)

Fimlab Laboratoriot Oy:n (2013) tutkimusohjekirjan mukaan verinäyte otetaan puhtaan, säilöntäaineettomaan putkeen, jossa ei saa olla antikoagulanttia. Näytteen punasolut hemolysoidaan pipetoimalla verta kylmän perkloorihapon joukkoon. Tämän jälkeen saostettua näytettä säilytetään hetki kylmässä täydellisen saostumisen varmistamiseksi. Tämän jälkeen näytettä sentrifugoidaan useasti ja erotetaan siitä supernatantti, josta voidaan määrittää laktaattipitoisuus kemian analysaattorilla entsymaattisesti. (Fimlab Laboratoriot 2013.) Tässä opinnäytetyössä ei mitattu laktaattia perkloorihappomenetelmällä, koska työssä oli tavoitteena löytää keinoja nopeuttaa ja helpottaa nykyistä käytössä olevaa laktaattimittausmenetelmää ja tällä menetelmällä niin ei tapahdu.

4 LAATU KLIINISESSÄ LABORATORIOSSA

4.1 Laboratorion laatu

Kliinisen kemian laboratoriossa suoritetaan lukuisia laboratoriomittauksia, joiden tulosten perusteella tehdään ihmisten terveyttä koskevia päätöksiä. Tämän vuoksi jokaiseen mittaustulokseen on pystyttävä luottamaan ja laboratoriolla on suuri vastuu analyysiensä laadusta ja tulosten oikeellisuudesta. Tulosten oikeellisuuden varmentamiseksi tulee osoittaa koko mittausjärjestelmän (näyte, analyysimenetelmä, mittalaite, mittaja ja mittausympäristö) kyky tuottaa oikeita tuloksia ja kaikkia osatekijöitä seurataan tulosten laadun varmistamiseksi. (Jaarinen & Niiranen 2005, 8.) Kiinteiden laboratorioanalyysitoimien lisäksi myös vieritestaus tarvitsee suunniteltua ja hyvin toteutettua laadunvarmistusta onnistuakseen (Linko ym. 2009, 286).

Laboratorion laadunvarmistuksella tarkoitetaan toimenpiteitä, joiden avulla varmistetaan määritellyn, tarvittavan ja riittävän laatutason saavuttaminen. Perustekijöitä kokonaisvaltaisessa laadunvarmistuksessa ovat mm. osaavat tekijät, hyvät testit, kontrollointi sekä tulosten jäljitettävyys. Kaiken laadunhallinnan perusta on kuitenkin kunnollinen ohjeistus. (Linko ym. 2009, 286.) Laboratorioilla on laatukäsikirjassa ja menettelytapaohjeissa kuvaus siitä, kuinka suunniteltu toiminnan laatu ja tulosten luotettavuus pyritään saavuttamaan (Jaarinen & Niiranen 2005, 9).

4.1.1 Validointi ja verifiointi

Kliinisessä, analyysipalveluita tuottavassa laboratoriossa toiminta perustuu validoitujen analyysimenetelmien käyttämiseen. Validointi tarkoittaa koestusta tai testausta, jonka avulla todetaan analyysimenetelmän sopivuus ja suorituskky aiottua tarkoitusta varten riittävän luotettavasti. Validoitavan menetelmän suorituskkyä kuvaavat parametrit selvitetään mittaussarjojen avulla ja näiden mittausten tulosten avulla todetaan menetelmän luotettavuus ja tulostason oikeellisuus. (Jaarinen & Niiranen 2005, 11.) Käytännössä validointi voi tarkoittaa myös esimerkiksi tietyn asian mittaamiseen käytetyn mittaustutkimuksen validointia toisen asian mittaamiseen, jolloin osoitetaan menetelmän toimivuus

luotettavasti aiotussa käyttötarkoituksessa (Saxholm 2013, 74). Kemiallisen testin validointi suoritetaan vertaamalla käyttöön otettavaa testiä laboratoriomenetelmään, jonka tulostason ero kansainväliseen referenssitasoon on tiedossa ja jonka toistotarkkuus sekä oikeellisuus ovat riittäviä vertailumenetelmäksi. Käytännössä vertailu tehdään laboratoriossa käytössä olevaan menetelmään ja näytemateriaalina käytetään joko molemmille menetelmille soveltuvaa materiaalia tai testaus tehdään kahdella peräkkäisellä näytteenotolla. (Linko ym. 2009, 292–293; Magnusson & Örnemark 2014, 11.)

Validointiin liittyy läheisesti myös verifiointi eli varmentaminen. Tämä tarkoittaa menetelmän sisäänajoa ja toiminnan varmistamista todellisissa käyttöolosuhteissa, todellisilla potilasnäytteillä. Verifiointiin tulisi suorittaa ne henkilöt, jotka todellisuudessa tulevat verifioitavaa menetelmää käyttämään. (Linko ym. 2009, 292, 320.) Verifiointi tarkoittaa käytännössä mittausten tekoa käyttöön otettavalla menetelmällä tai analysaattorilla ja tuloksia verrataan vastaavan, jo käytössä olevan menetelmän tai analysaattorin tuloksiin. Verifiointissa mittaussarjan laajuus ei ole yleensä yhtä laaja kuin esim. validoinnissa. (Magnusson & Örnemark 2014, 7.) Verifiointiksi katsotaan myös tulostason tarkastaminen ja tason uudelleen todentaminen rutiinikäytön aikana (Linko 2004, 60). Myös käytössä olevaan menetelmään tehtävät muutokset on verifioitava, kuten esim. näytemuodon, -putken tai reagenssin vaihtuminen. Vierianalytiikassa käytettävät mittalaitteet ja –menetelmät tulisi myös verifioida ennen varsinaista käyttöönottoa, jotta voidaan varmistua saatujen tulosten oikeellisuudesta (Åkerman 2010, 81).

4.1.2 Sisäinen laadunohjaus ja ulkoinen laadunvarmistus

Kliinisessä laboratoriossa analyttisen laadunvarmistuksen keskeisimmät osa-alueet ovat sisäinen laadunohjaus ja ulkoinen laadunvarmistus. Sisäinen laadunohjaus tarkoittaa laboratoriohenkilökunnan suorittamia jatkuvia toimenpiteitä, joilla varmistetaan laboratoriosta annettavien tulosten luotettavuus. Menetelmien jatkuvaa suorituskykyä seurataan päivittäiskontrolleilla, jolloin mahdolliset muutokset tulostasossa huomataan sekä voidaan tarkistaa, että on pysytty analyttisissä laatutavoitteissa. Kontrollinäytteille on asetettu omat tavoitearvot hyväksymis- ja hylkäämisrajoineen. (Linko 2004, 60, 62.) Laboratorio voi käyttää menetelmiensä tason tutkimiseen omia näytteitä tai kaupallisia tuotteita. Näytekohtaiset tavoiterajat tutkimuksille saadaan referenssilaboratorioiden tai laadunvalvontakierroksille osallistuvien laboratorioiden tuloksista. (Penttilä 2004c, 36.)

Laboratorion ulkoinen laadunvarmistus tarkoittaa laboratorion ulkopuolisen toimijan suorittamaa tulosten tarkastelua, johon sisältyy myös vertailua muihin laboratorioihin tulosten oikeellisuuden osoittamiseksi. Yleensä ulkoinen laadunvarmistus tarkoittaa sellaisten näytteiden tai valmisteiden tutkimista, joiden arvoja määrittävä laboratorio ei tiedä. Kun laboratorion omia tuloksia verrataan muiden saamiin arvoihin, voidaan päätellä oman menetelmän taso niin kotimaisella kuin kansainvälisellä tasolla. Analyttisen laadunvarmistuksen laatutavoitteiden voidaan katsoa toteutuvan kun sekä sisäisen laadunohjauksen että ulkoisen laadunvarmistuksen tulokset ovat hyväksyttävissä rajoissa. (Linko 2002, 62; Penttilä 2004c, 38.)

4.2 Menetelmä- ja laitekoestus

Kun laboratorion käyttöön tulee uusi laite tai jo käytössä olevaan menetelmään halutaan tehdä muutoksia, tulee uusi laite tai uusi menetelmä koestaa. Tällä varmistetaan, että uuden laitteen tai menetelmän tuottamat tulokset ovat korvattavan laitteen / menetelmän kanssa yhteneviä. Eurachem (1997, 15) määrittelee laitekoestuksen prosessiksi, jolla varmistetaan laitteiston sopivuus käyttötarkoitukseensa sekä sen toimivuus sovittujen vaatimusten mukaisesti. Laitekoestuksen osa-alueet ovat suunnittelukatselmus, vastaanotto-tarkastus, toiminnan tarkastus sekä suorituskyvyn tarkastus. Näistä suunnittelukatselmus liittyy toimenpiteisiin ennen laitteen asennusta ja vastaanottotarkastus sisältää laitteen asennukseen liittyvät tarkastustoimenpiteet. (Eurachem 1997, 13, 19.) Laitekoestuksessa laitteen toiminnan tarkastus on prosessi, jolla voidaan osoittaa laitteiston toimivuus teknisten vaatimusten mukaisesti sille valitussa ympäristössä ja suorituskyvyn tarkastus puolestaan sisältää toimenpiteet, joilla osoitetaan laitteen toimivuus jatkuvassa rutiinikäytössä (Eurachem 1997, 30, 32).

Suomalainen laitekoestusmalli

Suomalaisissa laboratorioissa on jo pitkään ollut käytössä klinisen kemian analysaattoreiden koestuksen avuksi koestusohjelmamalli (Elo ym. 1989). Kaihola, Rintola ja Sandbacka (1990) kehittivät vastaavan koestusmallin erityisesti terveyskeskuslaboratorioiden tarpeita ajatellen, mutta nämä molemmat koestusohjelmat ovat sisällöltään samankaltaisia. Suomalainen analysaattorien koestusmalli muodostuu kahdesta toiminnallisesta vaiheesta: tutustumisjaksosta ja varsinaisesta koestusvaiheesta. Tutustumisjaksolla perehdy-

tään laitteen toimintaan, ominaisuuksiin sekä analyysimenetelmiin ja luodaan edellytykset varsinaiselle koestukselle. Tutustumisjakson aikana tulisi tutkia jokaisesta laitteen erimääritysmenetelmäperiaatteesta vähintään yksi sovellus riippuen analysaattorin määritysmenetelmävalikoimasta (esim. yksi päätepestemittaus, yksi kineettinen mittaus ja yksi turbidometrinen mittaus). Jokaisen testattavan menetelmän toistettavuus testataan eritasoisilla laaduntarkkailunäytteillä, joiden lisäksi määrityksiä tehdään myös pienellä määrällä potilasnäytteitä. Tutustumisjakson päättyessä sekä toistettavuustulosten että menetelmän tulostason tulee olla hyväksyttyjä. (Elo ym. 1989, 98; Kaihola ym. 1990, 176–177.)

Varsinaisen koestuksen tulisi antaa ennen kaikkea mahdollisimman hyvä kuva laitteen ominaisuuksista ja toimintatavoista. Koestukseen tulisi valita 100 potilasnäytettä, jotka eivät saisi olla selvästi sameita, hemolyyttisiä tai ikteerisiä sekä niiden tulisi edustaa pitoisuuksiltaan eri tasoja. Näytteitä suositellaan analysoimaan viitenä päivänä n. 20 potilasnäytettä / pvä sekä näiden lisäksi laaduntarkkailunäytteet. Näytemäärien tulisi olla niin suuria, että analyysit voidaan suorittaa sekä koestettavalla menetelmällä että vertailumenetelmällä ja määritykset eri laitteilla tulisi suorittaa mahdollisimman samanaikaisesti. Varsinaisen koestuksen aikana tarkkaillaan myös sarjan sisäistä sekä sarjojen välistä toistettavuutta, päivänakaista liukumaa sekä siirtymävirhettä. Sarjan sisäinen toistettavuus testataan rinnakkaismäärityksillä ja sarjojen välistä toistettavuutta testataan määrittämällä samat valitut laaduntarkkailunäytteet vähintään kymmenenä päivänä, jolloin saadaan selville muuttuuko tulos päivästä toiseen. Päivänakaisella liukumalla testataan laitteen stabiilisuutta sekä reagenssien säilyvyyttä yhden työpäivän aikana, mittaamalla valittuja laaduntarkkailunäytteitä vähintään 12 kertaa puolen tunnin välein saman työpäivän aikana. Erilaisia reagensseista tai näytteistä johtuvia siirtymävirheitä voidaan myös testata koestuksen aikana. (Elo ym. 1989, 98–100; Kaihola ym. 1990, 177–179.)

Yksi tärkeimmistä koestuksen vaiheista on luonnollisesti vertailu aikaisempaan, tunnettuun menetelmään. Potilasnäytteistä, joita on käytetty laitteen / menetelmän toistettavuusmittauksissa, tehdään mittaukset myös vertailulaitteella / -menetelmällä. Näin saatuja tuloksia voidaan verrata toisiinsa ja saadaan selville, kuinka hyvin aikaisempi menetelmä ja uusi, koestettava menetelmä vastaavat toisiaan. Molempien menetelmien tuloksia vertaillaan yleensä graafisesti, jolloin nähdään myös mahdollisesti tuloksen kokoluokkien välillä olevia eroja eli tuleeko tuloksiin mahdollisia eroja enemmän pienissä tai suurissa pitoisuuksissa. (Elo ym. 1989, 101–102 ; Kaihola ym. 1990, 180.) Elo ym. (1989, 103)

kirjoittavat koestusohjelmassaan lisäksi käyttökokemuksen mukaan tapahtuvasta laitteen soveltuvuuden arvioinnista. Heidän mukaansa analyysilaitteiden hankinnan yhteydessä tulisi laitekoestuksen lisäksi ottaa huomioon myös muitakin tekijöitä, kuin vain pelkät koestuksen tulokset, kuten esim. laitteen vaatima työvoima, yleinen käytön helppous, käyttökustannukset ja mahdollinen melutaso. (Elo ym. 1989, 103.)

5 OPINNÄYTETYÖN TARKOITUS JA TAVOITTEET

5.1 Tarkoitus ja tavoitteet

Tämän opinnäytetyön tarkoituksena on verifioida Radiometer ABL800 Flex – verikaasuanalysaattori laktaatin osalta ja vertailulaitteena on kliinisen kemian analysaattori Cobas Modular EVO ja sen P-yksikkö (fotometrinen yksikkö). Tarkoituksena on määrittää laktaattipitoisuuksia molemmilla analysaattoreilla plasmanäytteistä. Laktaattipitoisuuksia mitataan kahdesta eri plasmaputkesta, litium-hepariiniputkesta ja NaF-K-oksalaattiputkesta. Näin saadaan vertailtua, eroavatko eri analysaattoreilla mitatut laktaattipitoisuudet toisistaan ja voidaan tarkastella plasmaputken antikoagulantin vaikutusta tuloksiin. Lisäksi halutaan selvittää mahdollisuutta luopua NaF-K-oksalaattiputken kylmänäytteenotosta tai peräti kokonaan NaF-K-oksalaattiputkesta laktaattimäärityksissä. Tämän selvittämiseksi näytteitä otetaan litium-hepariiniputkiin sekä NaF-K-oksalaattiputkiin kylmänäytteenottona ja huoneenlämpöön.

Työn tavoitteena on selvittää, voiko laktaattia määrittää kemian analysaattorin lisäksi verikaasuanalysaattorilla NaF-K-oksalaattiputken plasmasta. Lisäksi pyritään selvittämään onko näyteputken antikoagulantilla ja kylmänäytteenotolla merkittävää vaikutusta plasman laktaattipitoisuuteen. Tällä hetkellä laboratoriossa mitataan laktaattia NaF-K-oksalaattiputkista kemian analysaattorilla ja verikaasuanalysaattorilla laktaattia mitataan pääasiallisesti kapillaari- tai ruiskuverinäytteistä. Aiheesta haluttiin tehdä opinnäytetyö siksi, että muutamalla keskussairaalan osastolla (mm. heräämö, teho-osasto, päivystysosasto) on käytössä verikaasuanalysaattori laboratorion lisäksi ja nyt halutaan tutkia, voitaisiinko näitä analysaattoreita käyttää laktaattimäärityksiin niin, että kemian määrittämisestä voitaisiin luopua kokonaan. Laktaattimääritys kuuluu jo nyt tiettyihin verikaasupaketteihin, joita osastoilla analysoidaan nyt. Tähän asti laktaattimääritykset NaF-K-oksalaattiputkesta on tehty ainoastaan laboratoriossa kemian analysaattorilla. Tässä työssä haluttiin selvittää mahdollisuutta suorittaa määritykset myös osastoilla käytössä olevilla verikaasuanalysaattoreilla, jotta laktaattivastaus saataisiin nopeammin hoitohenkilöstön käyttöön kun näytettä ei tarvitsisi enää kuljettaa laboratorioon analysoitavaksi. Verikaasuanalysaattori on verifioitava potilasnäytteitä apuna käyttäen laboratoriossa, ennen kuin sillä voidaan määrittää potilasnäytteitä osastoilla. Aivan kaikkia laboratorion oman verifiointimenettelyn kohtia ei sisällytetä tähän opinnäytetyöhön, sillä esim. näytteiden tulosten

siirtymistä tietokonejärjestelmään ei tulla tässä opinnäytetyössä tekemään, vaan se jää analysaattorien verifiointista vastaavien sairaalakemistien tehtäväksi.

5.2 Tutkimuskysymykset

Opinnäytetyössä etsitään vastauksia seuraaviin tutkimuskysymyksiin:

- Onko laktaattimääritys mahdollista suorittaa NaF-K-oksalaattiputken plasmasta ABL800 Flex -verikaasuanalyysaattorilla?
- Eroavatko verikaasuanalyysaattorilla ja kemian analyysaattorilla mitatut laktaattipitoisuudet toisistaan merkittävästi?
- Eroavatko litium-hepariiniputken ja kylmänäytteenä otetun NaF-K-oksalaattiputken plasman laktaattipitoisuudet toisistaan merkittävästi?
- Eroavatko kylmänäytteenä NaF-K-oksalaattiputkeen otettu plasman laktaattipitoisuus huoneenlämpöön otetusta NaF-K-oksalaattiputken laktaattipitoisuudesta?

6 TUTKIMUKSEN TOTEUTUS

Sain opinnäytetyön aiheen Fimlab Laboratoriot Oy:n Keski-Suomen yksikön tuotantopäällikkö Elina Porkkala-Sarataholta ja sairaalakemisti Kristiina Kainulaiselta huhtikuussa 2014. Tutkimussuunnitelman tein lokakuussa 2014 ja tutkimusluvan sain saman vuoden marraskuussa. Ennen laboratoriomittausten aloittamista tutustuin aiheeseen liittyvään kirjallisuuteen ja etsin tietoa siitä, kuinka laktaattia mitataan eri laboratorioissa ympäri Suomea. Näitä tietoja on koottu liitteessä 1 olevaan taulukkoon ja mukana on tietoja Fimlab Laboratoriot Oy:n, Huslab:in, Tykslab:in, Islab:in ja NordLab:in tutkimusohjekirjoista. Näiden tietojen tutkiminen oli tärkeää tätä opinnäytetyötä ajatellen, sillä eri laboratorioilla on hieman erilaisia tapoja mitata laktaattia ja työn kokeellista osuutta varten täytyi selvittää eri laboratorioden tutkimusohjekirjojen sekä tieteellisten artikkelien perusteella, mitkä tekijät vaikuttavat laktaattimääritykseen ja mitä niistä tulisi mahdollisesti ottaa huomioon tässä opinnäytetyössä. Oman haasteensa tiedon etsimiseen toi se, ettei laktaattia määritetä NaF-K-oksalaattiputken plasmasta verikaasuanalysaattorilla missään Suomen laboratoriossa, eikä vastaavaa tietoa löytynyt myöskään ulkomaisista julkaisuista.

Fimlab Laboratoriot Oy Keski-Suomen yksikön laboratoriohoitajat keräsivät potilasnäytteitä helmi-maaliskuussa 2015 osastojen aamukiertojen aikana. Potilailta ei erikseen vaadittu paastoa, sillä esim. hätätilanteissa laktaattia mitataan myös ilman paastoa ja paaston vaikutuksen ei katsottu tässä työssä olevan olennaista. Aivan kaikissa laktaattia määrittävissä laboratorioissa paasto on tutkimusohjekirjojen mukaan vähintäänkin suositeltavaa, mutta ei välttämätöntä ennen laktaattinäytteenottoa. Rasituksen tiedetään vaikuttavan laktaattipitoisuuteen, mutta koska näytteet kerättiin potilailta aamukierroilla, he ovat mitä todennäköisimmin olleet levossa näytteenottoa edeltävän yön ennen näytteenottoa ja siten rasitus ei ole vaikuttanut pitoisuuksiin.

Tässä työssä haluttiin selvittää sekä kylmänäytteenoton että putken antikoagulantin vaikutusta laktaattipitoisuuteen, joten näytteitä otettiin joka potilaalta samalla kertaa kolme näyteputkea. Näytteitä kerättiin 50 potilaalta, joten plasmanäytteiden kokonaismäärä oli 150. Liitteessä 2 on ohje, jonka mukaan laboratoriohoitajat keräsivät näytteet. Yksi putki oli NaF-K-oksalaattiputki kylmänäytteenottona eli putki laitettiin heti jäihin näytteenoton

jälkeen. Tämän lisäksi otettiin samalla kertaa näyte myös toiseen NaF-K-oksalaattiputkeen ja yhteen geelittömään litium-hepariiniputkeen, jotka molemmat jätettiin huoneenlämpöön näytteenoton jälkeen. Näytteiden keräämiseen käytetyt litium-hepariiniputket olivat kaikki samaa valmistuserää (lot 4112356), samoin kuin kaikki käytetyt NaF-K-oksalaattiputket olivat keskenään samaa erää (lot 1310016). Samoista putkieristä otetuilla putkilla pystyttiin estämään mahdollisten eräkohtaisten erojen vaikutus tuloksiin. Putkiin merkattiin näytteenottoaika ja näytteet sentrifugoitiin laboratoriossa tunnin sisällä näytteen ottamisesta. Sentrifugoinnin jälkeen plasma eroteltiin kierrekorkillisiin erotteluputkiin ja näytteet pakastettiin lämpötilassa $-24\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Näytteiden sulatus ja analysointi suoritettiin 13. – 27.3.2015 välisenä aikana. Pakastettuja plasmanäytteitä otettiin sulamaan pienissä erissä ja mittaukset suoritettiin näytteille samana päivänä kun ne oli sulatettu. Näytteen sulamisen jälkeen (0,5 – 1 tuntia) putket sentrifugoitiin ennen kuin niistä pipetoitiin plasmaa mikrokuppeihin. Jokaisesta putkesta pipetoitiin 200 μl Modular EVO:lle meneviin mikrokuppeihin ja n. 400 μl toiseen mikrokuppiin, josta tehtiin mittaukset verikaasuanalysaattorilla. Näytteet mitattiin kummallakin analysaattorilla vain kerran ilman rinnakkaismäärittystä, sillä varsinkin verikaasuanalysaattorilla mittausten suorittaminen oli erittäin hidasta. Cobasin Modular EVO:lle menevien näytteiden tietojen syöttämisestä ja analysaattorille laittamisesta huolehtivat laboratoriohoitajat. Modular EVO:n näytteet menivät analysoitavaksi mahdollisimman pian näytteiden pipetoinnin ja tietojen syötön jälkeen.

Verikaasuanalysaattorille varatut näytteet korkitettiin pipetoinnin jälkeen ja pidettiin korokitettuna mittaushetkeen saakka. Mittaukset tehtiin teho-osastolla sijaitsevalla Radiometer ABL800 Flex – verikaasuanalysaattorilla ja näytemääränä oli 95 μl . Plasmanäyte syötettiin analysaattoriin ruiskunäytteiden injektointikohdasta. Näytteet mitattiin kummallakin analysaattorilla näytteiden ottojärjestyksessä eli tarran juoksevan numeroinnin mukaan pienimmästä suurimpaan. Tämän lisäksi joka näytteestä mitattiin ensimmäisenä litium-hepariiniplasma, toisena huoneenlämpöön otettu NaF-K-oksalaattiplasma ja kolmantena kylmänäytteenä otettu NaF-K-oksalaattiplasma. Mittaukset pyrittiin suorittamaan mahdollisimman pian sentrifugoinnin ja pipetoinnin jälkeen. Mittausten väliin tuli väkisinkin viiveitä verikaasuanalysaattorilla mitattaessa, sillä analysaattori on teho-osastolla rutiinikäytössä, joten oikeiden potilasnäytteiden mittausten aikana omat näytteeni odottivat analysaattorin vapautumista käyttöön. Lisäksi viivettä aiheuttivat verikaasua-

lysaattorin automaattiset yhden pisteen kalibroinnit, joita analysaattori suoritti itsenäisesti. Verikaasuanalysaattori on ohjelmoitu suorittamaan yhden pisteen kalibrointi neljän tunnin välein, mutta analysaattori suoritti näitä kalibrointeja myös tästä aikataulusta poiketen näytemäärittysteni aikana.

7 TUTKIMUKSEN TULOKSET JA JOHTOPÄÄTÖKSET

Mittaustuloksia käsiteltiin Excel-taulukkolaskentaohjelmalla, jolla myös piirrettiin tuloksista kuvaajat. SPSS-tilasto-ohjelmalla testattiin keskiarvojen erojen merkitsevyyttä. Cobas Modular EVO:lla ja Radiometer ABL800 – verikaasuanalysaattorilla mitatut laktaattitulokset löytyvät taulukoituna liitteestä 3. Tuloksia käsittelevissä taulukoissa käytetty LH-lyhenne tarkoittaa litium-hepariiniplasmasta mitattuja näytteitä, RT tarkoittaa huoneenlämpötilaan otettuja NaF-K-oksalaattiputken näytteitä ja Kylmä-merkintä tarkoittaa kylmänäytteenä otettuja NaF-K-oksalaattiputkia. Kummankin analysaattorin eri plasma-putkien tuloksista laskettiin keskiarvot, keskihajonnat ja variaatiokertoimet, sekä ilmoitettiin maksimi- ja minimiarvot (taulukko 1).

TAULUKKO 1. Analysaattorien laktaattitulosten tilastollisia lukuja

	Oksalaattiputki Kylmä		Oksalaattiputki RT		Litium-hepariini- niputki	
	EVO	ABL800	EVO	ABL800	EVO	ABL800
Keskiarvo (mmol/l)	1,36	1,38	1,45	1,46	1,77	1,59
Keskihajonta (mmol/l)	0,66	0,62	0,67	0,68	0,67	0,61
Minimiarvo (mmol/l)	0,52	0,5	0,53	0,5	0,56	0,6
Maksimiarvo (mmol/l)	4,07	4,0	4,13	4,4	4,55	4,1
CV (%)	48,3	44,7	46,3	46,3	37,7	38,0
Keskiarvojen ero- %		-1,47	-6,62	-7,35	-30,1	-16,9

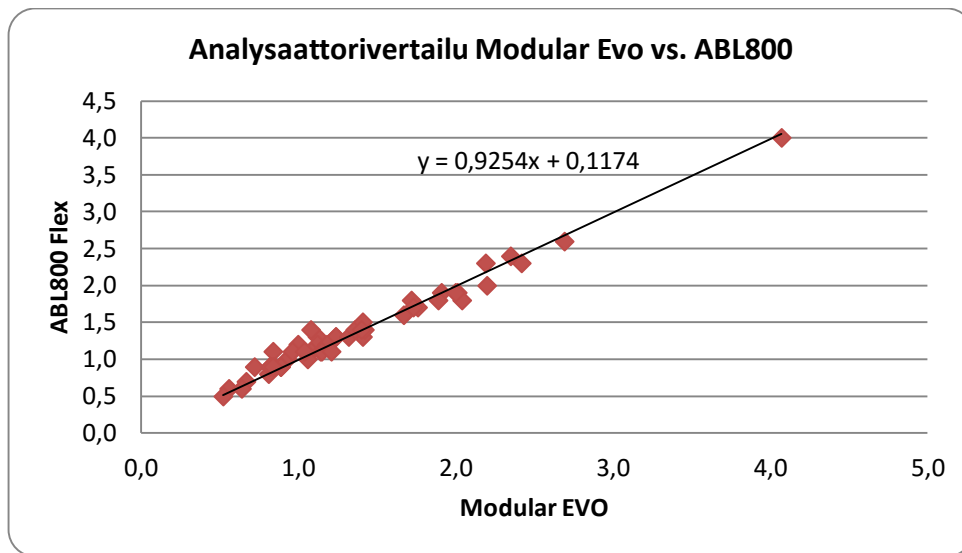
Taulukossa 1 olevat keskiarvojen ero- %:t on laskettu yhtälön (1) mukaan ja vertailumenetelmänä on kaikissa ollut Modular EVO:n kylmänäytteenä otettujen tulosten keskiarvo, johon on verrattu kaikkien muiden mittaussarjojen tulosten keskiarvoja. Vertailumenetelmän keskiarvosta vähennettiin toisen mittaussarjan tulosten keskiarvo (yhtälössä X) ja verrattiin erotusta Modular EVO:n kylmänäytteenä otettujen tulosten keskiarvoon. Negatiivinen arvo kertoo, kuinka monta prosenttia korkeampaa tulostasoa on saatu toisella mittaussarjalla vertailumenetelmään verrattuna.

$$\frac{\text{Modular EVO (kylmä)} - X}{\text{Modular EVO (kylmä)}} * 100 \% \quad (1)$$

Analysaattorivertailuissa vertailumenetelmänä ja – putkena toimi Modular EVO ja NaF-K-oksalaattiputki kylmänäytteenottona, sillä tällä yhdistelmällä laboratoriossa tällä hetkellä määritetään laktaattipitoisuudet potilasnäytteistä. Kun mittaussarjojen keskiarvoja verrataan vertailumenetelmän keskiarvoon, suurimmat eroprosentit saadaan litium-hepariiniputkiin verrattaessa (-30,1 % ja -16,9 %). Kun oksalaattiputkien tulosten keskiarvoja verrataan vertailumenetelmän keskiarvoon, saadaan kaikissa tapauksissa alle 8 prosentin eroja (arvot välillä -1,47 % ja -7,35 %). Kaikissa tapauksissa vertailumenetelmällä saatu tulosten keskiarvo on pienempi kuin muilla mittaussarjoilla, joten siksi kaikki keskiarvojen eroprosentit ovat negatiivisia lukuja. Tulosten keskihajonnat vaihtelevat välillä 0,61 – 0,68 eli kaikissa mittaussarjoissa yksittäiset tulokset poikkeavat melkein saman verran mittaussarjan keskiarvosta. Variaatiokertoimella (CV %) voidaan vertailla keskihajontaa suhteessa keskiarvoon ja luvun kasvaessa mittaustulosten vaihtelu kasvaa. Lasketut hajontaluvut eivät ole parhaita mahdollisia lukuja kuvaamaan tämän aineiston jakaantumista, koska mitattujen näytteiden pitoisuudet vaihtelevat keskenään jonkin verran. Lisäksi hajontalukujen laskemiseen vaikuttaa oleellisesti tulosten jakautuminen ja tässä työssä mitatussa aineistossa hyvin matalia (alle 1 mmol/l) ja hyvin korkeita (yli 3 mmol/l) tuloksia ei ollut mukana kovinkaan paljon.

7.1 Analysaattorien tulostasovertilu

Mittaustulosten perusteella haluttiin selvittää, saadaanko esille eroja kun samat näytteet on analysoitu eri analysaattoreilla. Eri analysaattorien tulosten riippuvuutta toisistaan voidaan määrittää korrelaatiolla (korrelaatiokertoimella). Tätä voidaan tutkia graafisesti laittamalla kuvaajan x-akselille vertailumenetelmällä saadut tulokset ja y-akselille tulee vastaavasti samasta näytteestä testattavalla menetelmällä mitatut pitoisuudet. Tässä opinnäytetyössä on vertailumenetelmänä Modular EVO ja testattava menetelmä on Radiometer ABL800 Flex. Kuvaajissa on ilmoitettu suoran yhtälö ja sen lisäksi on laskettu korrelaatio (r). Ensimmäisenä on verrattu toisiinsa eri analysaattorien tuloksia, kun näyte on otettu kylmänäytteenä NaF-K-oksalaattiputkeen. Kuviossa 3 on esitetty näiden tulosten korrelaatiokuvaaja.

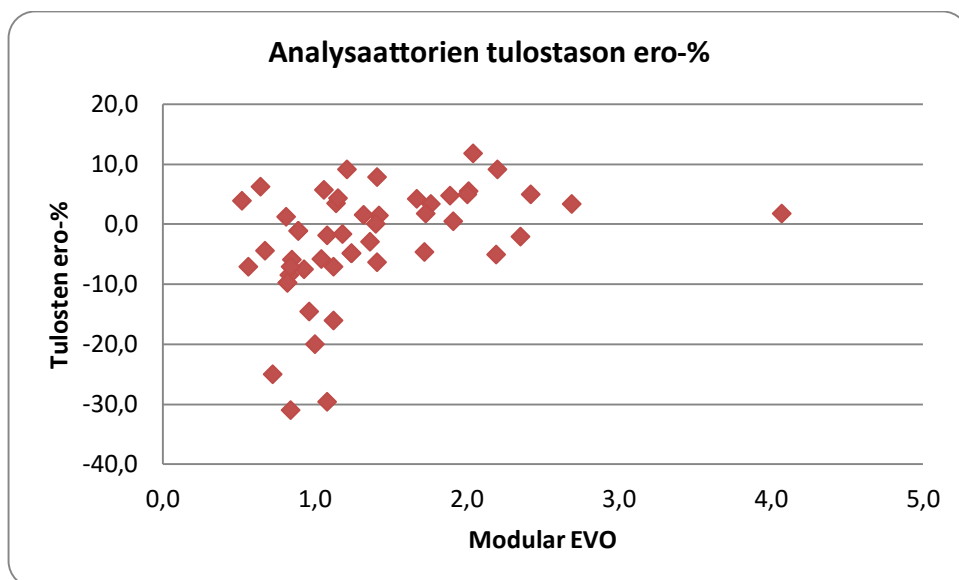


KUVIO 3. Laktaattipitoisuuksien korrelaatiokuvaaja (kylmänäytteenä otetut NaF-K-oksalaattiputket)

Kaikki mittaustulokset sijoittuvat kauniisti suoran molemmille puolille ja mikään tulospari ei poikkea näkyvästi joukosta. Tulospaarille laskettu korrelaatio on 0,988 eli menetelmien tulokset korreloivat hyvin keskenään, kun näyte on otettu kylmänäytteenä NaF-K-oksalaattiputkiin. Korrelaatio on erittäin hyvä, sillä korrelaatio on parhaimmillaan arvon ollessa mahdollisimman lähellä arvoa 1. Suoran kulmakerroin (0,9254) ei ole aivan paras mahdollinen, sillä tämän perusteella Radiometer ABL800 antaisi hieman pienempiä pitoisuuksia kuin Modular EVO. Tästä huolimatta eri analysaattorien tulokset vastaavat hyvin toisiaan

Analysaattorien tuloksia voidaan vertailla toisiinsa myös laskemalla eri analysaattoreilla mitatun saman näytteen tulosten erotus ja ilmoittamalla se prosentteina. Erotus lasketaan vähentämällä vertailumenetelmän tuloksesta vertailtavan menetelmän tulos, jaetaan se vertailumenetelmän tuloksella ja kerrotaan erotus sadalla, jolloin tulos saadaan prosentteina. Kun erotus ja erotusprosentti ovat negatiivisia, tarkoittaa se Modular EVO:n tuloksen olleen pienempi kuin vastaavan näytteen tulos Radiometer ABL800 – analysaattorilla. Eron ollessa positiivinen, on Radiometer ABL800 mitannut pienemmän tuloksen. Tulosten tasoeroprocentit voidaan laittaa kuvaajaan, jolloin nähdään myös mahdollisesta tulostasosta johtuvia eroja. Tosin tässä työssä saadut tulokset painottuivat alle 3 mmol/l pitoisuuksiin, joten tätä suurempien pitoisuuksien muutoksista on vaikea tehdä johtopäätöksiä näiden tulosten perusteella. Kylmänäytteenä NaF-K-oksalaattiputkeen otettujen

laktaattipitoisuuksien tulosten erot vaihtelivat eri analysaattoreilla välillä $-0,32 - 0,24$ mmol/l. Erot eivät ole suuria, mutta prosentteina ilmoitettuna eri analysaattorien välillä on eroa pahimmillaan yli -30% , kuten näkyy kuviosta 4, jossa on esitetty analysaattorien tulostason ero- % Modular EVO:n tuloksen kanssa samassa kuvaajassa.

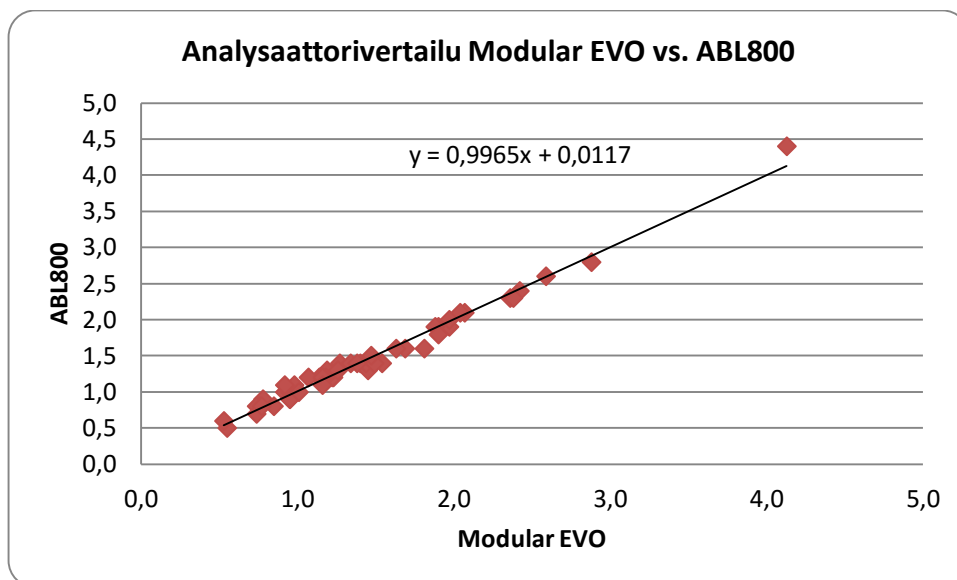


KUVIO 4. Kylmänäytteenä otettujen NaF-K-oksalaattinäytteiden laktaattipitoisuuksien tulosten ero- % Modular EVO:lla ja ABL800:lla

Prosentteina tulosten erot vaihtelevat n. 12% :sta aina yli -30% :iin (kuvio 4). Korkeat prosentuaaliset erot voivat selittyä mitattujen arvojen pienuudella. Muutosten ei tarvitse olla suuria, kun prosentuaalinen muutos onkin jo huomattava. Kaikkien eroprosenttien keskiarvo oli kuitenkin vain $-2,90\%$ eli keskimäärin erot olivat tulosten välillä pieniä ja voisi sanoa että Modular EVO:n ja Radiometer ABL800 – analysaattorin tulostasot vastaavat toisiaan hyvin

Huoneenlämpöön otetut NaF-K-oksalaattinäytteet

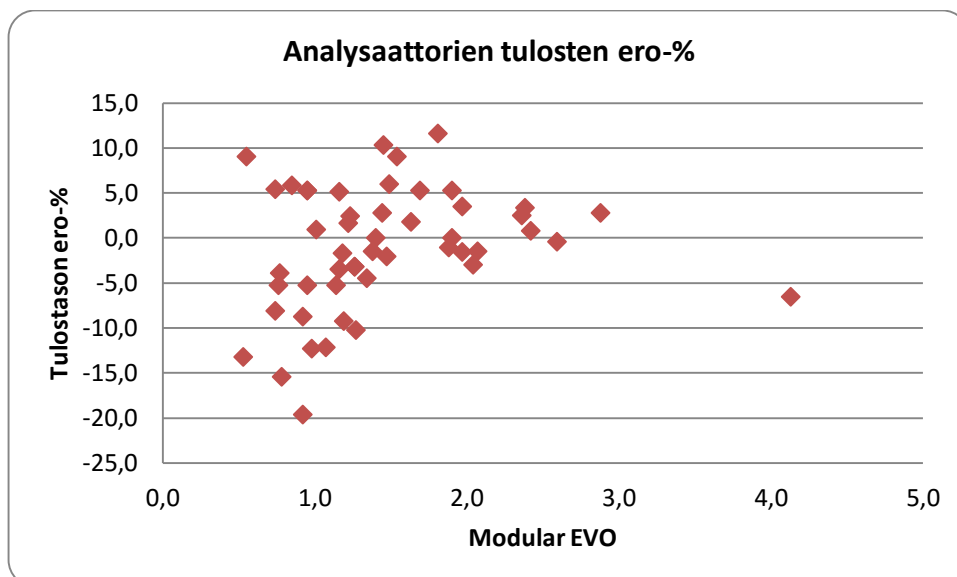
Kun verrataan edellä esitetyllä tavalla toisiinsa huoneenlämpöön otettuja NaF-K-oksalaattiputkien plasman laktaattipitoisuuksia vertailtavilla menetelmillä, saadaan kuvion 5 mukainen korrelaatiokuvaaja.



KUVIO 5. Laktaattipitoisuuksien korrelaatiokuvaaja (huoneenlämpöön otetut NaF-K-oksalaattiputket)

Kaikki tulokset sijoittuvat erittäin kauniisti regressiosuoran välittömään läheisyyteen ja mitään selkeitä poikkeamia joukosta ei ole havaittavissa (kuvio 5). Vertailtavien analysaattorien korrelaatioksi saadaan 0,992 eli analysaattorit mittaavat myös huoneenlämpöön otetut NaF-K-oksalaattiputkien laktaattipitoisuudet erittäin hyvin toisiaan vastavasti. Korrelaatio on jopa parempi kuin kylmänäytteenä otetuilla NaF-K-oksalaattiputkilla ($r = 0,988$). Myös suoran kulmakerroin on erinomainen, 0,9965 eli Modular EVO ja ABL 800 mittaavat näytteet hyvin toisiaan vastaavina.

Analysaattorien tulosten erot vaihtelivat huoneenlämpöön otettujen NaF-K-oksalaattiputkien keskuudessa välillä -0,27 – 0,21 mmol/l. Erot olivat jälleen erittäin pieniä ja prosentteiksi laskettuna erot olivat välillä -19,6 % - 11,6 %. Erojen perusteella ei voisi sanoa kummankaan analysaattorin mittaavan järjestelmällisesti suurempia tai pienempiä pitoisuuksia, koska näytepisteet ovat jakaantuneet melko tasaisesti nollan molemmille puolille. Kuviossa 6 on esitetty analysaattorien tulosten prosentuaaliset erot huoneenlämpöön otettujen NaF-K-oksalaattiputkien tuloksista.

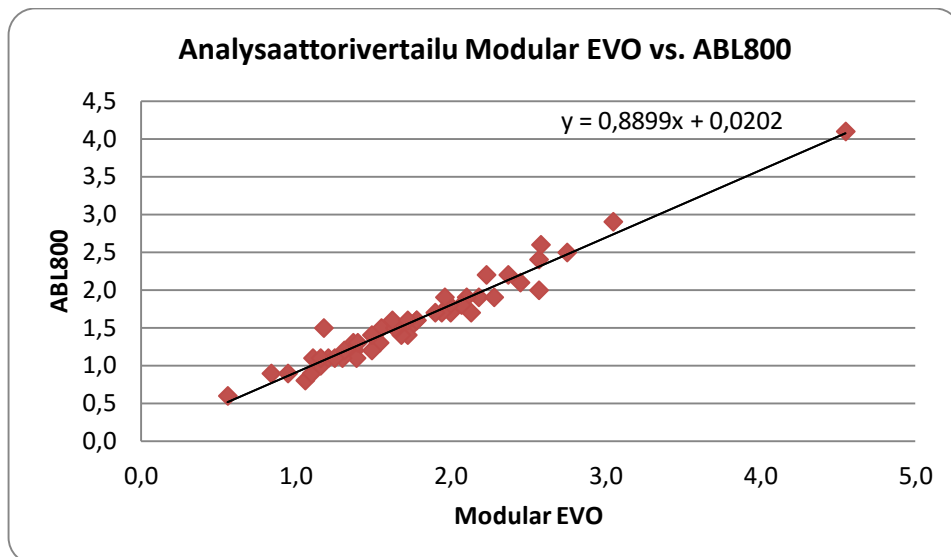


KUVIO 6. Huoneenlämpöön otettujen NaF-K-oksalaattinäytteiden laktaattipitoisuuksien ero- % Modular EVO:lla ja ABL800:lla

Eroprosentit jakaantuvat jälleen hieman enemmän tulostason 1 mmol/l ympärille ja pienenevät hieman tuloseron ollessa 2 mmol/l tai enemmän. Tulostason eroprosenttikuvaaja on hyvin samansuuntainen kylmänäytteenä otettujen NaF-K-oksalaattiputkien kuvaajan kanssa. Kaikkien eroprosenttien keskiarvoksi saatiin -1,11 % eli keskimäärin analysaattorit mittaavat näytteet myös huoneenlämpöön otetuista NaF-K-oksalaattiputkista erittäin hyvin toisiaan vastaavasta.

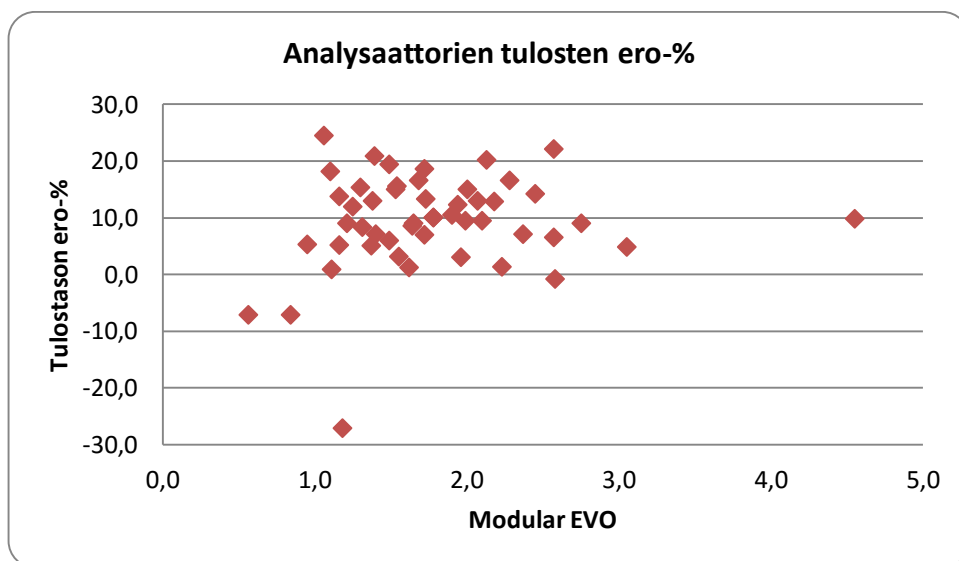
Litium-hepariiniputkiin otetut näytteet

Myös litium-hepariiniputkista mitattiin laktaattipitoisuudet molemmilla analysaattoreilla. Kuviossa 7 on esitetty korrelaatiokuvaaja analysaattorien tuloksista. Analysaattorien väliseksi korrelaatioksi saadaan 0,978. Korrelaatio on hieman matalampi NaF-K-oksalaattiputkien vastaaviin korrelaatioihin verrattuna, mutta silti tässäkin korrelaatio on hyvä analysaattorien välillä. Suoran kulmakerroin (0,8899) voisi olla parempi, sillä tämän mukaan ABL800-analisaattori mittaa tulokset hieman pienempinä kuin Modular EVO. Ero johtuu luultavasti eri näyteputkesta, ei analysaattorista. Eli analysaattorit mittaavat saman näytteen melko hyvällä korrelaatiolla, mutta ABL800 antaa tasaisesti pienempiä tuloksia.



KUVIO 7. Korrelaatiokuvaaja litium-hepariiniputkien laktaattipitoisuuksista

Kuviosta 8 nähdään analysaattorien mittaamien laktaattitulosten eroprosentit. Ensimmäisenä huomio kiinnittyy siihen, että lähes kaikki tulokset ovat nollan yläpuolella eli positiivisia. Modular EVO on siis mitannut suuremman tuloksen kuin ABL800 lähes kaikilla näytteillä. Lisäksi melko monen näytteen ero- % on n. 15 % tai yli. NaF-K-oksalaattiputkien kohdalla ei näin montaa suurta eroprosenttia ollut havaittavissa. Kaikkien eroprosenttien keskiarvoksi tuli 9,40 % eli ei kovin suuri tasoero, mutta kuitenkin selkeästi suurempi kuin vastaavilla näytteillä NaF-K-oksalaattiputkista mitattaessa.

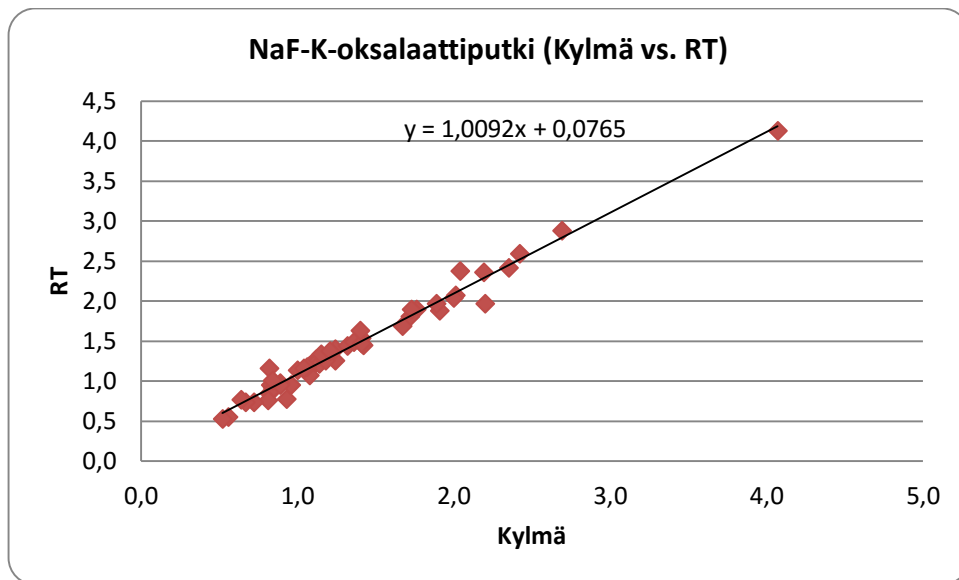


KUVIO 8. Litium-hepariiniputkien laktaattipitoisuuksien ero- % Modular EVO:lla ja ABL800:lla

Vertailin graafisten kuvaajien lisäksi analysaattorien antamien tulosten keskiarvoja SPSS-tilasto-ohjelmalla ja ns. keskiarvotestillä. Kahden ryhmän välisten keskiarvojen vertailuun käytin t-testiä, jonka tulos kertoo ovatko ryhmien tulokset toistettavia ja täsmääviä vai eivät. Kun t-testin tulos on alle 0,05 keskiarvojen ero on tilastollisesti merkitsevä. Jos testin tulos on yli 0,05 keskiarvojen välillä ei ole tilastollisesti merkitsevää eroa ja vertailtavien määritysten tulokset ovat keskenään täsmääviä. (Lehtinen 2011, 32, 43.) Kun verrattiin toisiinsa Modular EVO:lla ja ABL800:lla mitattujen kylmänäytteenä otettujen NaF-K-oksalaattiputkien tulosten keskiarvoja, saatiin t-testin tulokseksi arvo 0,308. Eri analysaattoreilla tehtyjen, huoneenlämpöön otettujen NaF-K-oksalaattiputkien tulosten keskiarvojen vertailu antoi arvon 0,594. Nämä molemmat arvot ovat yli 0,05 eli eri analysaattorien tulosten keskiarvojen välillä ei ole tilastollisesti merkitsevää eroa ja voidaan sanoa, että NaF-K-oksalaattiputkiin otettujen näytteiden tulokset Modular EVO:lla ja ABL800:lla mitattuina ovat keskenään täsmääviä. Litium-hepariiniputkiin otettujen näytteiden kohdalla analysaattorien keskiarvoja vertailtaessa saatiin tulos 0,000 eli tulos on alle 0,05 ja analysaattorien antamien keskiarvojen välillä on tilastollisesti merkittävä ero litium-hepariininäytteiden kohdalla ja Modular EVO:n ja ABL800:n tulokset eivät siis tilastollisesti ole keskenään täsmääviä.

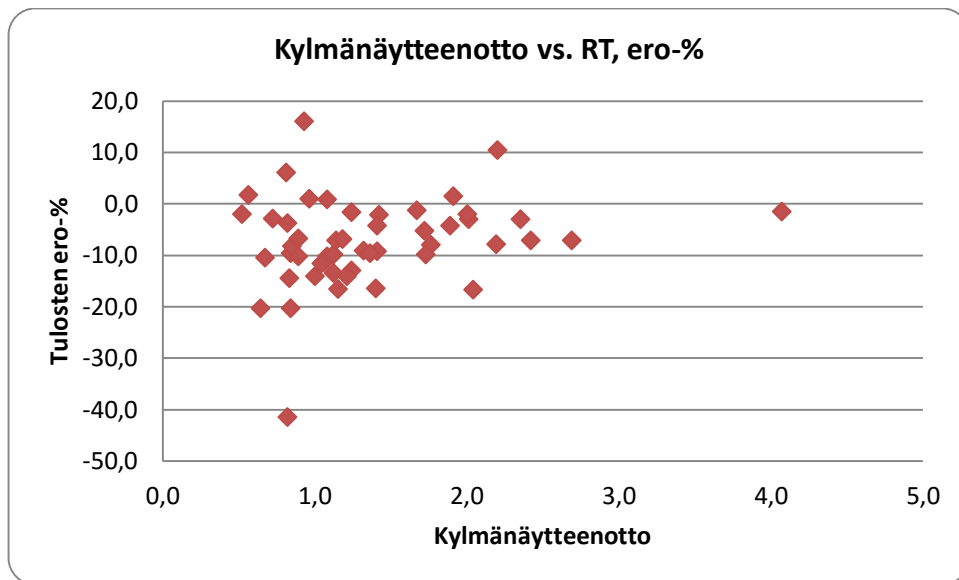
7.2 Kylmänäytteenoton vaikutus laktaattipitoisuuteen

Toinen opinnäytetyön tutkimuskysymys oli kylmänäytteenoton tai oikeastaan kylmänäytteenoton poisjättämisen vaikutus laktaattipitoisuuteen. Tutkin kylmänäytteenoton vaikutusta tuloksiin vertaamalla Modular EVO:lla mitattujen kylmänäytteenä otettujen NaF-K-oksalaattiputkien tulosta huoneenlämpöön otettujen NaF-K-oksalaattiputkien tuloksiin. Kuviossa 9 on esitetty näiden tulosten korrelaatiokuvaaja. Tulosten korrelaatio on 0,989 eli kylmänäytteenä otetuilla näytteillä on vahva positiivinen korrelaatio huoneenlämpöön otettujen näytteiden kanssa. Suoran kulmakerroin on 1,0092 ja se on erittäin lähellä arvoa 1, mikä tarkoittaa sitä, että kylmänäytteenä otetuista näytteistä tulee lähes täysin sama arvo huoneenlämpöön otettujen näytteiden kanssa.



KUVIO 9. NaF-K-oksalaattiputkien kylmänäytteenoton ja huoneenlämpönäytteiden korrelaatiokuvaaja, analysaattorina Modular EVO

Eroprosentit NaF-K-oksalaattiputkiin kylmänäytteenä ja huoneenlämpöön otettujen näytteiden välillä on esitetty kuviossa 10. Suurin osa eroprosenteista sijoittuu nollaviivan lähetyville tai sen alapuolelle, tarkoittaen sitä että suurimmalla osalla näytteistä huoneenlämpöön otettu näyte on antanut lähes samaan tai suuremman tuloksen kuin kylmänäytteenä otettu näyte. Tämä on ihan odotettavissa oleva tulos, sillä laktaattipitoisuuden tiedetään nousevan näytteenoton jälkeen ja nimenomaan kylmänäytteenoton tiedetään hidastavan tätä laktaattipitoisuuden nousua. Yhtä ainoaa poikkeusta lukuun ottamatta, kaikki muut tulosten erot pysyvät välillä -20 – 20 %, joten eroprocentit ovat kuitenkin pysyneet kohtuullisella tasolla. Kaikkien eroprosenttien keskiarvoksi tulee kuitenkin vain -7,36 %, jota huonontaa vielä yksi yksittäinen yli -40 % oleva tuloserö.

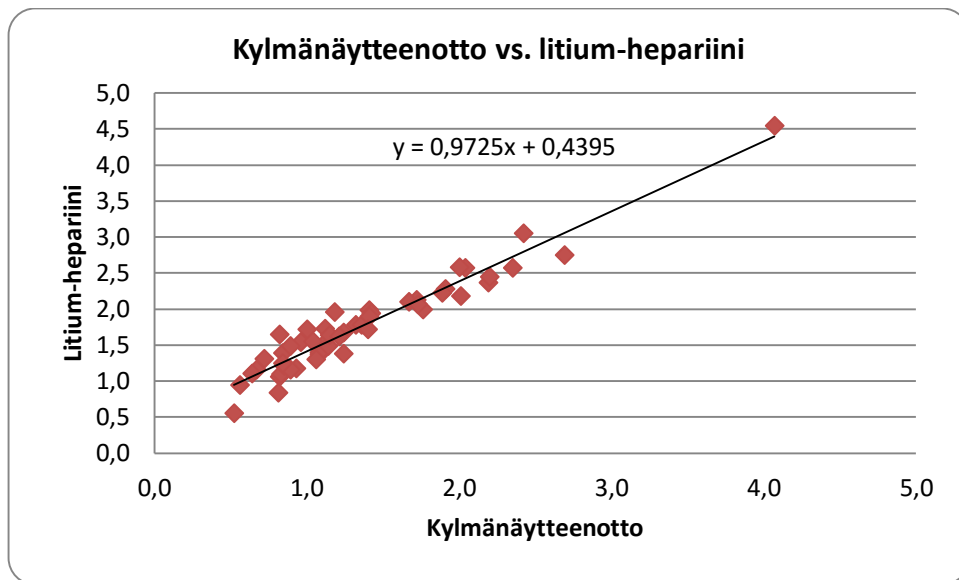


KUVIO 10. NaF-K-oksalaattiputkien kylmänäytteenoton ja huoneenlämpönäytteiden tulosten ero- %, analysaattorina Modular EVO

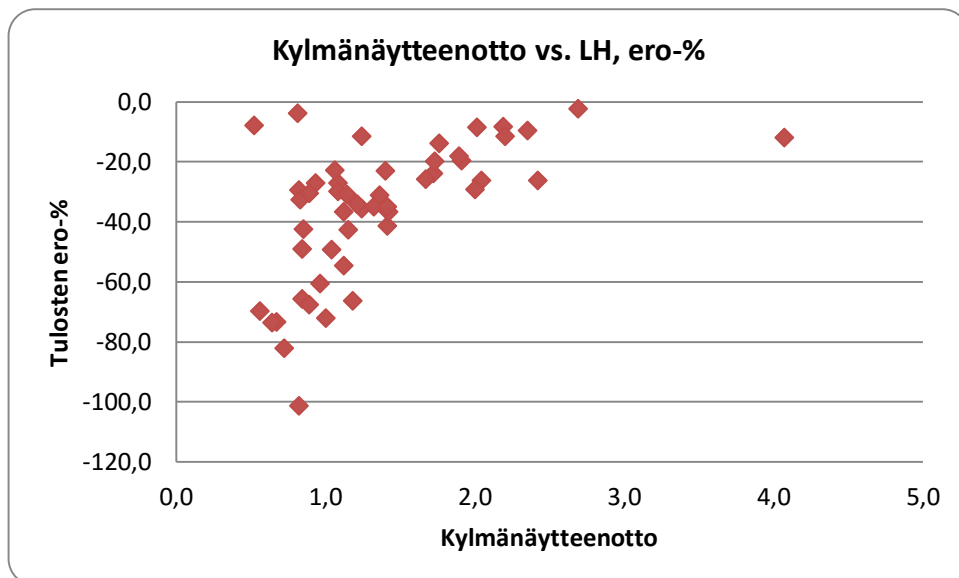
7.3 Näyteputken säilöntäaineen vaikutus laktaattipitoisuuteen

Mittauksissa käytettiin NaF-K-oksalaattiputkien lisäksi litium-hepariiniputkia, sillä joissakin laboratorioliikelaitoksissa laktaattia mitataan myös litium-hepariiniputkista. Lisäksi Radiometer ABL800 – analysaattorin suosituksena olisi käyttää vain litium-heparinisoi-tuja näytteitä. Putken säilöntäaineen vaikutusta laktaattitulokseen tutkin vertaamalla Modular EVO:n antamia kylmänäytteenä otettujen NaF-K-oksalaattiputkien laktaattituloksia saman analysaattorin litium-hepariiniputkien tuloksiin. Tuloksista tehtiin korrelaatiokuvaaja (kuvio 11).

Eri putkien korrelaatioksi saadaan 0,963 mikä osoittaa melko hyvää positiivista korrelaatiota putkien välillä. Korrelaatio ja suoran kulmakerroin eivät kuitenkaan ole yhtä hyviä kuin vastaavilla NaF-K-oksalaattiputkeen otetuilla näytteillä oli. Kuviossa 12 on esitetty näiden eri putkien tulosten erot prosentteina ja analysaattorina on ollut Modular EVO.



KUVIO 11. Litium-hepariiniplasman ja kylmänäytteenä otetun NaF-K-oksalaattiplasman laktaattipitoisuuksien korrelaatiokuvaaja, analysaattorina Modular EVO



KUVIO 12. Litium-hepariiniputkien ja kylmänäytteenä otettujen NaF-K-oksalaattiputkien plasman tulosten ero- %, analysaattorina Modular EVO

Kaikki näytteiden eroprosentit ovat nollaviivan alapuolella eli kaikki litium-hepariiniputkien tulokset ovat vastaavaa kylmänäytteenä otettua tulosta suurempia (kuvio 12). Huomionarvoista on myös eroprosenttien suuruus. Suurin osa eroprosenteista on yli -20 % ja pahimmillaan prosentuaalinen ero näiden kahden eri putken näytteistä voi olla jopa yli -100 %. Jälleen ei voida tehdä johtopäätöksiä eritasoisten näytteiden jakaantumisesta, sillä suuria pitoisuuksia ei ollut mittauksissa mukana tarpeeksi. Suurimmat eroprosentit sijoittuvat taas pitoisuuden 1 mmol/l ympärille, sillä suurin osa näytteiden tuloksista sijaitsi tällä alueella ja tulosten pienuudesta johtuen myös eroprosentit ovat huomattavan suuria. Kaikkien eroprosenttien keskiarvoksi tulee -35,6 %, joten litium-hepariiniputkiin ja kylmänäytteenä NaF-K-oksalaattiputkiin otettujen näytteiden laktaattipitoisuuksissa on huomattavaa eroavaisuutta. Tämä voi selittyä sillä, että nimenomaan laktaatin määrittämiseen tarkoitettu NaF-K-oksalaattiputki yksinkertaisesti säilyttää mitattavana olevan laktaatin paremmin kuin litium-hepariiniputki.

8 POHDINTA

8.1 Tutkimustulosten pohdinta

Ensimmäisenä tutkimuskysymyksenä tässä opinnäytetyössä oli selvittää, onko laktaattimääritys mahdollista tehdä Radiometer ABL800 -verikaasuanalysaattorilla NaF-K-oksalaattiputkiin otetusta plasmasta. Ajatusta laktaatin mittaamisesta NaF-K-oksalaattiputkesta verikaasuanalysaattorilla tuki myös laitteen myyjältä saama tieto, jonka mukaan NaF-K-oksalaattiputki olisi soveltuva näihin määrittäisiin. Pelkkiä tulosten tilastolukuja ja kuvaajia tarkasteltaessa voidaan sanoa, että analysaattorien tulostasoissa ei ollut merkittäviä eroja kun tarkasteltiin tuloksia kylmänäytteenä tai huoneenlämpöön otetuista NaF-K-oksalaattiputkista. Erot näiden mittaussarjojen keskiarvoissa pysyivät kohtuullisina ollen alle 8 %. Litium-hepariiniputkien kohdalla eroprosentit mittaussarjojen keskiarvoissa vertailumenetelmään verrattuna kohosivat kuitenkin yli 16 prosenttiin. Yksittäisten tulosten eroprosenttien keskiarvot olivat NaF-K-oksalaattiputkien kohdalla todella pienet (-2,90 % ja -1,11 %) ja litium-hepariiniputkien kohdalla vastaava tulos oli 9,40 %. Tämän perusteella voidaan sanoa, että molempia analysaattoreita voisi käyttää laktaatin mittaamiseen erityisesti NaF-K-oksalaattiputkia käytettäessä, mutta käytännön mittauksen aikana tuli esille asioita, jotka voivat olla esteenä laktaatin mittaamiselle verikaasuanalysaattorilla. Mittauksen aikana verikaasuanalysaattori alkoi tehdä itsenäisesti ylimäärisiä kalibrointeja ja hyvin usein näiden jälkeen laite antoi ilmoituksen, ettei laktaattielektrodi ole kunnossa. Tämän lisäksi kesällä 2015 tuli laboratorion vierianalytiikka-koordinaattorilta tieto, ettei verikaasuanalysaattoreilla saa määrittää muita kuin litium-heparinisoituja näytteitä, sillä laitteen elektrodit saattavat vaurioitua käytettäessä putkia, joissa on jotain muuta säilöntäainena. Näiden käytännön kokemusten perusteella voi todeta, ettei laktaattia kannata mitata verikaasuanalysaattorilla NaF-K-oksalaattiputkien plasmasta, sillä laitteen elektrodit eivät siedä putken säilöntäainetta aiheuttaen ylimääräisiä kalibrointeja ja mahdollisesti elektrodien vaihtoja.

Tämän työn analysaattorien tasoeroja vertailtaessa tulee ottaa huomioon mitattujen näytteiden tulostaso. Lähes kaikki näytteet olivat tulostasoltaan laktaatin viitearvojen sisällä, joten tämän työn tulosten perusteella ei voida sanoa mitään huomattavan korkeista laktaattipitoisuuksista ja niiden mahdollisesta tasoerosta analysaattorien välillä. Jatkotutki-

musehdotus olisikin korkeiden laktaattitulosten määrittäminen esimerkiksi näytteitä vanhentamalla tai yrittämällä saada näytteitä potilailta, joilla on todettu korkea laktaattipitoisuus. Näiden korkeiden laktaattipitoisuuksien tasoeron selvittäminen analysaattorien välillä olisi tärkeää, sillä juuri nämä korkeat pitoisuudet ovat potilaille vaarallisia ja ne pitäisi pystyä luotettavasti mittaamaan.

Kun haluttiin selvittää kylmänäytteenoton vaikutusta laktaattipitoisuuteen, keskimääräinen yksittäisten tulosten eroprosentti oli melko hyvä (-7,36 %) ja mittaussarjojen keskiarvojen eroprosenttikin vain -6,62 %. Tämän perusteella voi todeta, että laktaattitulokseen ei tule kovin suurta eroa, laittaako NaF-K-oksalaattiputken näytteenoton jälkeen jäihin vai jättääkö sen huoneenlämpöön. Näytteenottajien kannalta tämä olisi selkeä parannus, sillä kylmänäytteenotto aiheuttaa ylimääräisiä järjestelyjä näytteenottokierroksilla. Lisätutkimuksia kannattaa silti tehdä lisää, jotta kylmänäytteenotosta voitaisiin harkita luopumista laktaattimäärittysten yhteydessä ja varsinkin niitä suurempia laktaattipitoisuuksia tulisi saada analysoitavaksi lisää. Laktaattimäärittysten tekemistä litium-hepariini-putkista Modular EVO:lla ei kannata harkita ihan sellaisenaan, sillä yksittäisten tulosten keskimääräinen eroprosentti oli aika hurja, -35,6 % ja mittaussarjojen keskiarvoja vertailtaesakin eroprosentti on yli -30 %. Yksi mahdollinen jatkotutkimusehdotus tähän liittyen on litium-hepariini-näytteiden kylmänäytteenotto laktaattimäärittysten yhteydessä. Litium-hepariini ei toimi yhtä hyvänä glykolyysin estäjänä ja laktaattipitoisuuden säilyttäjänä kuin NaF-K-oksalaatti, mutta kylmänäytteenä otettava litium-hepariini-putki voi olla yksi vaihtoehto oksalaattiputkelle laktaattimäärittäksiin. Tätä ei tässä opinnäytetyössä tutkittu ollenkaan. Toisaalta voi olla kyseenalaista, onko hyötyä lähteä vaihtamaan pelkkää näytteenotto-putkea, jos kylmänäytteenotto tulisi kuitenkin säilymään vaatimuksena.

Fimlab Laboratoriot Oy:n Keski-Suomen yksikköön tuli käyttöön uudet verikaasuanalysaattorit keväällä 2015 ja yksi mahdollinen jatkotutkimusidea olisi tehdä jonkinlaista vertailua Modular EVO:n ja uusien Radiometer ABL90 Flex-verikaasuanalysaattorien välillä laktaatin osalta. Näiden uusien verikaasuanalysaattorien kanssa tehtiin pieni testausmittauksia aloitettaessa, mutta jostain syystä analysaattorit antoivat hälytyksiä laktaattipitoisuuksien kohdalle usealle NaF-K-oksalaattiputkeen otetulle näytteelle. Tämän vuoksi mittaukset tehtiin Radiometer ABL800 – sarjan koneilla ja ABL90-sarjan koneilla ei ole tehty tasovertailua eikä testauksia muutamaa kokeilua enempää.

8.2 Kvantitatiivisen tutkimuksen luotettavuus ja eettisyys

Tämän opinnäytetyön tutkimus suoritettiin kvantitatiivisena eli määrällisenä tutkimuksena. Kvantitatiivisen tutkimuksen lisäksi on olemassa kvalitatiivista eli laadullista tutkimusta. Kvantitatiivisessa tutkimuksessa tehdään yleensä paljon mittauksia, jolla tarkoitetaan havaintoyksiköiden määrää. Havaintoyksiköitä tulee olla riittävästi, jotta tutkimuksen tulokset olisivat luotettavia ja tutkimus perustuu mittaamiseen, jonka tavoitteena on tuottaa luotettavaa, perusteltua ja yleistettävää tietoa. Tutkimuksen lähtökohtana on tutkimusongelma, johon mittaamisella pyritään hakemaan vastausta tai ratkaisua ja mittauksen tuloksena saatua aineistoa käsitellään usein tilastollisin menetelmin. (Kananen 2008, 10–11.)

Tässä opinnäytetyössä tulee esille monia kvantitatiiviselle tutkimukselle keskeisiä ominaisuuksia, kuten esim. aiemmista tutkimuksista tehdyt johtopäätökset ja teoriat. Keskeistä kvantitatiivisessa tutkimuksessa on tämän lisäksi mm. koejärjestelyjen tai aineiston keruun suunnitelmat, joilla voidaan varmistaa havaintoaineiston soveltuvuus määrälliseen mittaamiseen. Lisäksi tässä tutkimuksessa aineisto tullaan saattamaan tilastollisesti käsiteltävään muotoon ja aineistosta tehdään päätelmiä tilastolliseen analysointiin perustuen. (Hirsjärvi, Remes & Sajavaara 2013, 140.)

Kvantitatiivisessa opinnäytetyössä tulee aina ottaa myös kantaa työn luotettavuuteen eli tulee tarkastella reliabiliteettia sekä validiteettia. Validiteetti eli pätevyys kertoo, onko tutkimuksessa mitattu juuri sitä, mitä on ollut tarkoituskin mitata eli onko teoreettiset käsitteet pystytty muuttamaan luotettavasti muuttujiksi. Tutkimuksen validiteetti varmistetaan käyttämällä oikeaa tutkimusmenetelmää, oikeaa mittaria ja mittaamalla oikeita asioita. (Kananen 2008, 79–81; Kankkunen & Vehviläinen-Julkunen 2009, 152.) Tässä opinnäytetyössä käytettiin laktaatin mittaamiseen jo validoituja, potilasnäytteiden analysointiin käytettäviä analysaattoreita. Näillä analysaattoreilla mitataan laktaattia laboratoriossa tälläkin hetkellä eli voidaan olettaa että analysaattorit mittaavat oikeaa, tutkimuksessa haluttua asiaa ja siten tämän tutkimuksen validiteetti on hyvä.

Kvantitatiivisessa tutkimuksessa reliabiliteetilla tarkoitetaan mittarin kykyä tuottaa samoja tuloksia eri mittauskerroilla, jotta tulokset ovat pysyviä, toistettavia ja ei-sattumanvaraisia. Tätä voidaan arvioida esim. käyttämällä tutkimusilmiön mittaamiseen samaa

mittaria mutta eri aineistoa, jolloin mahdollisesti saadut samansuuntaiset tulokset kertovat mittarin olevan reliaabeli. (Kananen 2008, 79; Kankkunen & Vehviläinen-Julkunen 2009, 152.) Tässä opinnäytetyössä reliabiliteetti on hyvä, sillä analysaattorien tulosten oikeellisuutta arvioitiin mittaamalla kontrollinäytteitä. Reliabiliteettia nostaa myös tarkka kuvaus siitä, miten työ on tehty ja mitä välineitä, laitteita ja aikoja tutkimuksessa on käytetty, sillä tutkimuksen teon tarkan kuvauksen perusteella tutkimus pystyttäisiin uusi-
maan.

Hoitotieteellistä tutkimusta tehdessä tulee noudattaa eettisiä toiminta- ja tutkimustapoja. Koska tutkimuksen kohteena ovat henkilöt ja heihin liittyvät tiedot, on tutkimusta tehdessä otettava huomioon erityisiä tutkimuseettisiä näkökohtia. Tutkittavien henkilöiden yksityisyys, potilasturvallisuus ja koskemattomuus tulee ehdottomasti turvata. Jokaiselle tutkittavalle on kerrottava riittävän tarkasti tutkimuksesta, johon heidän halutaan osallistuvan sekä heiltä on saatava suostumus tutkimukseen osallistumisesta. (Kankkunen & Vehviläinen-Julkunen 2009, 172–175.) Tutkittavien henkilöiden henkilötietojen ja tunnistetietojen suojaamista säätelee henkilötietolaki tutkimusetiikan ohella. Yleensä lakia noudatetaan tutkimuksissa lupaamalla tutkittaville henkilöille, että he eivät ole tunnistettavissa tutkimusjulkaisussa. Aineisto voidaan myös anonymisoida eli suorat tunnistetutkittaviin poistetaan aineistosta tai niitä muutetaan. (Kuula 2006, 108, 112.) Tämän opinnäytetyön tutkimusosuudessa käytettiin potilasnäytteitä, mutta putkissa ei ollut mitään potilaiden tunnistetietoja vaan ainoastaan juokseva numerointi ja putken tunnistetietoja. Opinnäytetyössä näytteitä käsitellään näytenumeroina, joten potilaiden tietoja ei missään vaiheessa tule esille työn julkaistavassa versiossa ja näin potilaiden yksityisyys on täysin turvattu. Tutkimuksen tuloksista ei voi tunnistaa ketään tutkimukseen osallistunutta potilasta.

LÄHTEET

Andersen, O., Haugaard, S. B., Jørgensen, L. T., Sørensen, S., Nielsen, J. O., Madsbad, S. & Iversen, J. 2003. Preanalytical handling of samples for measurement of plasma lactate in HIV patients. *Scandinavian Journal of Clinical & Laboratory Investigation*. 63 (6), 449-454.

Bakker, J., Schievel, S. & Brinkert, W. 2002. Using point-of-care lactate to predict patient outcomes. Teoksessa Kost, G. J. (toim.) *Principles & Practise of Point-of-Care Testing*. USA: Lippincott Williams & Wilkins.

Blomster, M., Mäkelä, M., Ritmala-Castrén, M., Säämänen, J. & Varjus, S-L. 2001. *Tehohoitotyö*. Helsinki: Tammi.

Elo, A., Koivula, T., Rantanen, T., Elg, P., Huovinen, J., Gävert, J., Forsstedt, M. & Rantala, H. 1989. Kliinisen kemian analysaattorin koestusohjelma. *Moodi*. 13 (2), 96-105.

Eurachem. 1997. Analyttisen ja kliinisen kemian laadunvarmistussanasto. Eurachem-Suomi. Helsinki: KRP, Rikostekninen laboratorio.

Fimlab Laboratoriot Oy. 2012. Laktaatti (plasmasta). Tutkimusohjekirja. Ohjeen käyttöönottopäivämäärä 2.8.2012. Luettu 12.2.2015.
http://www.fimlab.fi/lake/ohjekirja/nayta.tmpl?sivu_id=194;setid=6070;id=8555

Fimlab Laboratoriot Oy. 2013. Laktaatti (kokoverestä). Tutkimusohjekirja. Ohjeen käyttöönottopäivämäärä 2.10.2013. Luettu 12.2.2015.
http://www.fimlab.fi/lake/ohjekirja/nayta.tmpl?sivu_id=194;setid=6468;id=10981

Heino, J. & Vuento, M. 2009. Biokemian ja solubiologian perusteet. 2. uudistettu painos. Helsinki: WSOYPro Oy.

Heinonen, O. J. 2013. Liikunnan vaikutus kliinis-kemiallisiin suureisiin. Teoksessa Vuori, I., Taimela, S. & Kujala, U. (toim.) *Liikuntalääketiede*. 3.-6. painos. Helsinki: Duodecim.

Hirsjärvi, S., Remes, P. & Sajavaara, P. 2013. *Tutki ja kirjoita*. Helsinki: Tammi.

Holappa, K. 2010. Laktaattimääritys Konelab 20i –kliinisen kemian analysaattorilla. Testaus ja soveltuvuuden arviointi Oulun seudun ammattikorkeakoulun palvelulaboratorioon. Bioanalytiikan koulutusohjelma. Oulun seudun ammattikorkeakoulu. Opinnäytetyö.

Huslab. 2014. Laktaatti, plasmasta, paastotilassa. Tutkimusohjekirja. Päivitetty 1.12.2014. Luettu 12.2.2015.
http://huslab.fi/cgi-bin/ohjekirja/tt_show.exe?assay=2184&terms=laktaatti

Huslab. 2015. Tutkimusohjekirja. Päivitetty 24.02.2015. Luettu 24.2.2015.
<http://huslab.fi/ohjekirja/>

Islab. 2015. fP-Laktaatti. Tutkimusohjekirja. Luettu 12.2.2015.
<http://www.islab.fi/index.asp?tz=-2>

- Jaarinen, S. & Niiranen, J. 2005. Laboratorion analyysitekniikka. 5. uudistettu painos. Helsinki: Edita.
- Jansen, T. C., van Bommel, J. & Bakker, J. 2009. Blood lactate monitoring in critically ill patients: A systematic health technology assessment. *Critical Care Medicine*. 37 (10), 2827-2839.
- Kaiholta, H-L., Rintola, P. & Sandbacka, B. 1990. Pienten laboratoriodien klinisen kemian analysaattorin koestusohjelma. *Moodi*. 14 (3), 176-181.
- Kananen, J. 2008. Kvantti – Kvantitatiivinen tutkimus alusta loppuun. Jyväskylän ammattikorkeakoulun julkaisuja 89.
- Kankkunen, P. & Vehviläinen-Julkunen, K. 2009. Tutkimus hoitotieteessä. 1. painos. Helsinki: WSOYpro.
- Keslab. 2014. P-Laktaatti. Keski-Suomen keskussairaalan laboratorion laktaattimäärityksen tutkimusohje. Päivitetty 22.8.2008. Luettu 11.9.2014.
- Koppinen, K. tuotepäällikkö. 2014. Yhteydenotto. Sähköpostiviesti. kimmo.koppinen@triolab.fi. Luettu 18.9.2014.
- Kuula, A. 2006. Tutkimusetiikka – Aineistojen hankinta, käyttö ja säilytys. Tampere: Osuuskunta Vastapaino.
- Lehtinen, O. 2011. COBAS-6000 –kliinisen kemian analysaattorin laitekoestus parathormonimäärityksen osalta. Bioanalytiikan koulutusohjelma. Pohjois-Karjalan ammattikorkeakoulu. Opinnäytetyö.
- Lehtinen, T. 2013. Maitohappo ei ole myrkky! *Juoksija* 43 (8), 53-55.
- Linko, S. 2004. Kontrollien merkityksestä käytännön laboratoriotyössä. *Moodi* 28 (2), 60-62.
- Linko, S., Savolainen, E-R., Åkerman, K., Nissinen, A., Ilanne-Parikka, P., Joutsu-Korhonen, L., Jylhä, A., Lassila, R., Linko-Parvinen, A-M., Linko, L., Meneses, E., Muukkonen, L., Nokelainen, S., Porkkala-Sarataho, E., Puhakainen, E., Siitonen, A., Suni, J. & Vuento, R. 2009. Vieritestaus terveydenhuollossa – Labqualityn asiantuntijasuositus. *Moodi* 33 (6), 269–351.
- Magnusson, B. (toim.) & Örnemark, U. (toim.) 2014. Eurachem Guide: The Fitness for Purpose of Analytical Methods – A Laboratory Guide to Method Validation and Related Topics. 2. painos.
- Nguyen, H. B., Rivers, E. P., Knoblich, B. P., Jacobsen, G., Muzzin, A., Ressler, J. A. & Tomlanovich, M. C. 2004. Early lactate clearance is associated with improved outcome in severe sepsis and septic shock. *Critical Care Medicine*. 32 (8), 1637-1642.
- NordLab. 2014a. Laktaatti, tehon päivystystutkimus, verestä. Tutkimusohjekirja. Päivitetty 15.1.2014. Luettu 12.2.2015.
http://oyslab.fi/cgi-bin/ohjekirja/tt_show.exe?assay=10303&terms=laktaatti

NordLab. 2014b. Laktaatti, verestä. Tutkimusohjekirja. Päivitetty 14.4.2014. Luettu 12.2.2015.

http://oyslab.fi/cgi-bin/ohjekirja/tt_show.exe?assay=2183&terms=laktaatti

Penttilä, I. 2004a. Elektrolyytti- ja happo-emästasapaino sekä nesteaitiot ja niiden tutkiminen. Teoksessa Penttilä, I. (toim.) Kliiniset laboratoriotutkimukset. 1. painos. Helsinki: WSOY.

Penttilä, I. 2004b. Lihaskudosten sairaudet ja niiden tutkiminen. Teoksessa Penttilä, I. (toim.) Kliiniset laboratoriotutkimukset. 1. painos. Helsinki: WSOY.

Penttilä, I. 2004c. Tutkimustulosten laatu ja laadunvarmistus. Teoksessa Penttilä, I. (toim.) Kliiniset laboratoriotutkimukset. 1. painos. Helsinki: WSOY.

Pratt, C. W. & Cornely, K. 2011. Essential Biochemistry. 2. painos. USA: Wiley.

Radiometer. 2014. ABL90 FLEX reference manual. Sähköinen verikaasuanalysaattorin toimintaopas. Luettu 24.2.2015.

Rashkin, M. C., Bosken, C. & Baughman, R. P. 1985. Oxygen Delivery in Critically Ill Patients. Relationship to Blood Lactate and Survival. Chest Journal. 87(5), 580-584.

Roche Diagnostics. 2013. Lactate. Cobas Modular EVO:n kemian analysaattorin laktaattimääritysohje.

Sacks, D. B. 2006. Carbohydrates. Teoksessa Burtis, C. A., Ashwood, E. R. & Bruns, D. E. Tietz Textbook of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics. 4. painos. USA: Elsevier Saunders.

Saxholm, S. 2013. Metrologian sanastosta yhteiset termit. Moodi. 36 (2), 72–74.

Seppä, M. 2013. Tehohoidossa minuuttikin merkitsee. Moodi. 36 (4), 122–124.

Seppälä, E. & Tuokko, S. 2010. Potilas ja näyte. Teoksessa Niemelä, O. & Pulkki, K. (toim.) Laboratoriolääketiede – kliininen kemia ja hematologia. 3. uudistettu painos. Helsinki: Kandidaattikustannus Oy.

Sopanen, P. 2008. Potilaan hoito päivystyspoliklinikassa. Teoksessa Castrén, M., Aalto, S., Rantala, E., Sopanen, P. & Westergård, A. Ensihoidosta päivystyspoliklinikalle. 1. painos. Helsinki: WSOY.

Toffaletti, J., Hammes, M. E., Gray, R., Lineberry, B. & Abrams, B. 1992. Lactate Measured in Diluted and Undiluted Whole Blood and Plasma: Comparison of Methods and Effect of Hematocrit. Clinical Chemistry. 38 (12), 2430–2434.

Tykslab. 2014. fP-Laktaatti. Tutkimusohjekirja. Päivitetty 13.11.2014. Luettu 12.2.2015. <http://webohjekirja.mylabservices.fi/TYKS/2184.html>

Uotila, L. 2010. Neste-, elektrolyytti- ja happo-emästasapaino. Teoksessa Niemelä, O. & Pulkki, K. (toim.) Laboratoriolääketiede – kliininen kemia ja hematologia. 3. uudistettu painos. Helsinki: Kandidaattikustannus Oy.

Vuori, I. & Strandberg, T. 2013. Aivojen toiminnan häiriöt. Teoksessa Vuori, I., Taimela, S. & Kujala, U. (toim.) Liikuntalääketiede. 3.-6. painos. Helsinki: Duodecim.

Väisänen, S., Eskelinen, S. & Halonen, T. 2002. Glukoosin säilyvyys näytteenottoputkissa. *KliinLab*. 19 (3-4), 48-50.

Wiener, K. 1995. Blood Sample Tubes for Lactate Assay. *Clinical Chemistry*. 41 (3), 483.

Young, D. S., Bermes, E. W. & Haverstick, D. M. 2006. Specimen Collection and Processing. Teoksessa Burtis, C. A., Ashwood, E. R. & Bruns, D. E. *Tietz Textbook of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics*. 4. painos. USA: Elsevier Saunders.

Åkerman, K. 2010. Vierianalytiikassa käytettävät laitteet. Teoksessa Niemelä, O. & Pulkki, K. (toim.) *Laboratoriolääketiede – kliininen kemia ja hematologia*. 3. uudistettu painos. Helsinki: Kandidaattikustannus Oy.

Åkerman, K. & Jokela, H. 2010. Laboratorion perusmenetelmät - Fotometria. Teoksessa Niemelä, O. & Pulkki, K. (toim.) *Laboratoriolääketiede – kliininen kemia ja hematologia*. 3. uudistettu painos. Helsinki: Kandidaattikustannus Oy.

LIITTEET

1 (2)

Liite 1. Eri laboratorioiden laktaattimääritysmenetelmiä

	Huslab	Fimlab	Tykslab	Islab	NordLab
Tutkimusnimike	fP-Laktaat	fP-Laktaat	fP-Laktaat	fP-Laktaat	B-Laktaat
Näyteputki	NaF-K-ok-salaatti	Litium-hepariini-geeli	NaF-K-oksa-laatti	Litium-hepariini-putki (ei geeli)	Lisäaineeton seerumiputki
Määrittämis menetelmä	Fotometrinen	Fotometrinen	Fotometrinen	Fotometrinen entsymaattinen tai amperometrinen entsyymi-elektrodi (verikaasuanalysointirissa)	Entsyymaattinen perkloorihappokäsittely ja fotometrinen mitaus
Paastonäyte?	Suosittelava Varmimmin oikea tulos 2 h levon jälkeen paastonäytteestä. Lapsilta ja päivystystilanteessa tehdään ilman paastoakin.	Suosittelava Varmimmin oikea tulos 2 h levon jälkeen paastonäytteestä.	Kyllä	Kyllä	Suosittelava
Näytteen käsittely näytteenoton jälkeen	Plasman erotus mahd. pian, viim. 30 min. kulluttua näytteenotosta	Kylmänäytteenotto. Näyte kylmässä laboratorioon mahd. pian, jossa sentrifugointi heti ja plasman erotus soluista.	Näytteen sentrifugointi mahd. pian, viim. 1 h kulluttua näytteenotosta.	Näyte voidaan ottaa myös litium-hepariini-putkeen ja lähettää plasmana (kylmänäytteenotto ja välitön plasman erotus).	Näyte käsitellään perkloorihapolla ja sentrifugoidaan.

(jatkuu)

	Huslab	Fimlab	Tykslab	Islab	NordLab
Näytteen säilytys / lähetys	Oksalaatti-putkeen otettu ja eroteltu näyte voidaan lähettää RT:ssä jos perillä samana päivänä. Muutoin kylmä-lähetys. Pidempiaikainen säilytys pakastettuna	Näyte säilyy suljetussa putkessa 8 h huoneenlämmössä ja 2 vko jääkaapissa. Pidempiaikainen säilytys pakastettuna.	Eroteltu näyte voidaan lähettää huoneenlämpöisenä, jos perillä samana päivänä. Muuten kylmä-lähetys. Eroteltu plasma säilyy 2 vko jääkaapissa.	Hepariiniplasma voidaan lähettää RT:ssä, jos perillä 2 vrk:n kuluttua näytteenotosta, muutoin pakastettuna. Hepariiniriskunäyte määritettävä 15 min. sisällä NOT:sta jos lähetys RT:ssä.	
Vii-tearvo (mmol/l)	0,5-2,2	alle 2,8	0,6-2,4	0,63-2,44	0,33-1,33
Muita laktaatin määrittämissä menetelmiä verestä ohjekirjassa?		B-Laktaat, Laktaatin määrittäminen kokoverinäytteestä perkloorihappomenetelmällä. Tehdään alihankintana.			B-Lakt-Teh, Ca-titrattu litium-hepariiniriskunäyte tehon päivitystutkimuksia varten.
Lähde	Huslab 2014	Fimlab Laboratoriot 2012 Fimlab Laboratoriot 2013 (Ohje koskee Pirkanmaata ja Kantahämettä. Keski-Suomessa oma ohje.)	Tykslab 2014	Islab 2015	NordLab 2014a NordLab 2014b

Liite 2. Ohje laktaattinäytteiden keräystä varten

Fimlab

LABORATORIOT OY

Keski – Suomen alue

VIERIANALYTIKKA

1(1)

13.2.2015

Näytekeräys opinnäytetyötä varten viikot 8 ja 9

Aamukiertojen yhteydessä otetaan satunnaisilta potilailta kolme ylimääräistä näyteputkea/potilas. Näyteputkia varten on erilliset tarrat, joihin on merkitty näytetyyppi ja näytenumero valmiiksi. Merkitse tarraan näytteenottopäivä. Tarvittaessa kapeita spriiuukoisia kyniä löytyy Virpiltä.

Näytekeräykseen käytettävät putket ja tarrat löytyvät kemialta.

Näytteet fuugataan ja erotellaan kemialla. Näytteen erotellaan kierrekorkillisiin erotteluputkiin, putkeen liimataan näytteenottoputkessa olevaa tarraa vastaava tarra. Tarrat löytyvät fuugin vierestä.

Näytteet pakastetaan PK 17 alaosassa. Hyllyllä on valmiina merkityt telineet.

Laktaatti 1 Kylmä Pvm. 17.2.15	→	Ota näyte laktaatti putkeen (lot 1310016). Näyte otetaan ilman staassia Na-fluoridi-K-oksalaatti-putkeen, joka sekoitetaan hyvin ja LAITETAAN VÄLITTÖMÄSTI JÄIHIN . Laita näytteenottoaika putkeen! Näyte on sentrifukoitava 1t:n kuluessa ottamisesta.
Laktaatti 1 RT Pvm. 17.2.15	→	Ota näyte laktaatti putkeen (lot 1310016). Näyte otetaan ilman staassia Na-fluoridi-K-oksalaatti-putkeen, joka sekoitetaan hyvin. TÄMÄ ON HUONEENLÄMPÖ NÄYTE, ÄLÄ LAITA JÄIHIN . Laita näytteenottoaika putkeen! Näyte on sentrifukoitava 1t:n kuluessa ottamisesta.
Hepariini 1 RT Pvm. 17.2.15	→	Ota näyte Litium Heparin putkeen (lot 4112356) Sekoita näyte hyvin. TÄMÄ ON HUONEENLÄMPÖ NÄYTE, ÄLÄ LAITA JÄIHIN . Laita näytteenottoaika putkeen! Näyte on sentrifukoitava 1t:n kuluessa ottamisesta.

Apua ja neuvoja voi kysyä Päiviltä, Katjalta ja Kaarinalta.

FIMLAB LABORATORIOT OY

Vierianalytiikka, Keski-Suomen alue
 Keskussairaalantie 19, 40620 Jyväskylä

Puh. 014 269 5175
 etunimi.sukunimi@fimlab.fi

fimlab.fi
 laboratorio.fi

Liite 3. Laktaattimittaustulokset

(mmol/l)	Cobas Modular EVO			Radiometer ABL800 Flex		
	LH	RT	Kylmä	LH	RT	Kylmä
1	1,73	1,27	1,12	1,5	1,4	1,3
2	1,38	1,26	1,24	1,2	1,3	1,3
3	2,37	2,36	2,19	2,2	2,3	2,3
4	2,00	1,90	1,76	1,7	1,9	1,7
5	1,72	1,14	1,00	1,4	1,2	1,2
6	2,75	2,88	2,69	2,5	2,8	2,6
7	2,57	2,42	2,35	2,4	2,4	2,4
8	3,05	2,59	2,42	2,9	2,6	2,3
9	1,18	0,78	0,93	1,5	0,9	1,0
10	1,37	1,19	1,08	1,3	1,3	1,4
11	4,55	4,13	4,07	4,1	4,4	4,0
12	1,53	1,23	1,12	1,3	1,2	1,2
13	2,13	1,81	1,72	1,7	1,6	1,8
14	1,06	0,85	0,82	0,8	0,8	0,9
15	2,18	2,07	2,01	1,9	2,1	1,9
16	1,39	0,92	0,84	1,1	1,0	1,1
17	1,54	0,95	0,96	1,3	1,0	1,1
18	1,40	1,07	1,08	1,3	1,2	1,1
19	2,45	1,97	2,20	2,1	1,9	2,0
20	1,49	1,22	1,14	1,2	1,2	1,1
21	2,28	1,88	1,91	1,9	1,9	1,9
22	1,30	1,18	1,06	1,1	1,2	1,0
23	1,10	0,95	0,83	0,9	0,9	0,9
24	0,84	0,76	0,81	0,9	0,8	0,8
25	2,23	1,97	1,89	2,2	2,0	1,8
26	2,10	1,69	1,67	1,9	1,6	1,6
27	1,55	1,16	1,04	1,5	1,2	1,1
28	2,07	1,90	1,73	1,8	1,8	1,7
29	1,31	0,74	0,72	1,2	0,8	0,9
30	1,99	1,54	1,41	1,8	1,4	1,3
31	1,16	0,74	0,67	1,0	0,7	0,7
32	2,57	2,38	2,04	2,0	2,3	1,8
33	1,68	1,40	1,24	1,4	1,4	1,3
34	1,96	1,26	1,18	1,9	1,3	1,2
35	1,49	0,98	0,89	1,4	1,1	0,9

(jatkuu)

2 (2)

(mmol/l)	Cobas Modular EVO			Radiometer ABL800 Flex		
Näyte	LH	RT	Kylmä	LH	RT	Kylmä
36	0,95	0,55	0,56	0,9	0,5	0,6
37	2,58	2,04	2,00	2,6	2,1	1,9
38	1,21	0,92	0,85	1,1	1,1	0,9
39	1,94	1,45	1,42	1,7	1,3	1,4
40	1,78	1,44	1,32	1,6	1,4	1,3
41	1,11	0,77	0,64	1,1	0,8	0,6
42	1,65	1,16	0,82	1,5	1,1	0,9
43	1,78	1,49	1,36	1,6	1,4	1,4
44	1,90	1,47	1,41	1,7	1,5	1,5
45	1,64	1,34	1,15	1,5	1,4	1,1
46	1,62	1,38	1,21	1,6	1,4	1,1
47	0,56	0,53	0,52	0,6	0,6	0,5
48	1,16	0,95	0,89	1,1	0,9	0,9
49	1,25	1,01	0,84	1,1	1,0	0,9
50	1,72	1,63	1,40	1,6	1,6	1,4
Keskiarvo	1,77	1,45	1,36	1,59	1,46	1,38